

CLAUDIA MARTINS GONÇALVES

**MONITORAMENTO PARA AVALIAÇÃO DO ESTÁGIO  
DE BIORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS  
COM O BIOINDICADOR VEGETAL *AVENA STRIGOSA* L.**

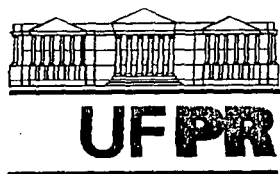
Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia do Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título e grau de Mestre em Ciências.

Orientador:

Prof. Francisco José Pereira de Campos Carvalho, Ph. D.

CURITIBA

2000




MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE SOLOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: CIÊNCIA DO SOLO(MESTRADO) e  
MONITORAMENTO, MODELAGEM E GESTÃO AMBIENTAL(DOUTORADO)  
Rua dos Funcionários, 1540-Curitiba/PR-80035-050-Fone/Fax 41-350-5648  
E-mail: [pgcisolo@agrarias.ufpr.br](mailto:pgcisolo@agrarias.ufpr.br)

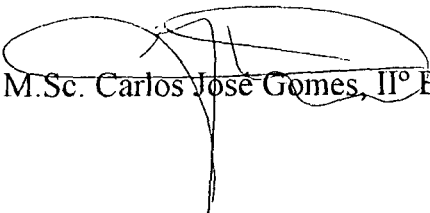
## P A R E C E R

Os Membros da Comissão Examinadora, designados pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pela candidata **CLAUDIA MARTINS GONÇALVES**, com o título: **"Monitoramento para avaliação do estágio de biorremediação de áreas contaminadas com o bioindicador vegetal *Avena Strigosa*"** para obtenção do grau de Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo" do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, são de Parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação com o conceito **"A"**, completando assim, os requisitos necessários para receber o diploma de **Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo"**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", em Curitiba 07 de dezembro de 2000.

  
Prof. Dr. Francisco José Rereira de Campós Carvalho, Presidente.

  
Prof. Carlos Raymundo Cano Núñez, 1º Examinador.

  
Prof. M.Sc. Carlos José Gomes, IIº Examinador.

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico este trabalho aos meus pais e minha avó, agradecendo por toda compreensão, apoio e carinho.**

**Ao meu noivo e irmãos pelo incentivo em todo o decorrer dos estudos.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço pelo incentivo, apoio e companheirismo ao meu noivo Gezerino, pela força nos momentos de fraqueza e pelo amor aos meus pais Kátia e Luiz e meus irmãos João Luiz e Maxine.

Agradeço ao professor Francisco José Pereira de Campos Carvalho pela amizade e valiosa orientação e pela oportunidade profissional oferecida após o curso de graduação.

Agradeço aos amigos do convênio "Meio Ambiente e Tecnologia de Resíduos" PETROBRAS - FUNPAR, biólogos Durval do Nascimento Neto, Michele Cristine Krenczynski, Juliana Ramos Gouvêa, Patrícia Werkelin e Silva e Cassiana Solange Moreira, engenheiro agrônomo Rodrigo Azevedo Castro e o engenheiro químico Adalberto Baptista.

Ao biólogo Durval Nascimento Neto, que pelo extremo companheirismo e amizade auxiliou-me na difícil etapa de instalação e monitoramento dos experimentos de campo e laboratório. Ao engenheiro agrônomo Sérgio Luiz de Souza, pelas sugestões, incentivo e amizade. A bióloga Michele Cristine Krenczynski, pelo apoio, colaboração e companheirismo e grande amizade desde o início na elaboração do presente trabalho.

Ao técnico químico de petróleo Abacari pelo auxílio nas análises com o equipamento de emissão de plasma. Aos operadores da UTDI da REPAR pela amizade que fizemos durante o período de convivência.

À Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS, Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, pela utilização de suas dependências e pelo apoio à pesquisa em pós-graduação.

À Fundação da Universidade Federal do Paraná para Desenvolvimento da Ciência, da Tecnologia e da Cultura - FUNPAR, pelo apoio a pesquisa, tomando viável a execução do presente trabalho. Ao Convênio do Meio Ambiente e Tecnologia de Resíduos, PETROBRAS - FUNPAR, pelo apoio e incentivo.



Enfim, a todos os professores, técnicos, amigos, até mesmo àquelas pessoas que desconheço os seus nomes, mas sei exatamente a importância de suas contribuições neste trabalho, o meu muito obrigado.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRAT.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1 TIPOS DE CONTAMINANTES.....	04
2.1.1 Resíduos oleosos.....	05
2.1.2 Composição das borras oleosas.....	05
2.2 TECNOLOGIA DE TRATAMENTO PARA RESÍDUOS OLEOSOS.....	06
2.2.1 <i>Landfarming</i> .....	06
2.2.2 Biorremediação.....	07
2.2.3 Tempo de biorremediação.....	09
2.3 PRINCIPAIS FATORES QUE INTERFEREM NA BIODEGRADAÇÃO DOS RESÍDUOS.....	09
2.3.1 Características do resíduo.....	09
2.3.2 Conteúdo dos nutrientes.....	09
2.3.3 Temperatura.....	10
2.3.4 Umidade.....	10
2.3.5 pH.....	10
2.3.6 Metais pesados.....	11
2.4 USO DE VEGETAIS PARA BIORREMEDIAÇÃO.....	11
2.4.1 Fitorremediação.....	12
2.4.1.1 Limitações de uso.....	16
2.5 PLANTAS COMO INDICADORAS DE POLUIÇÃO.....	17
2.6 PLANTAS BIOACUMULADORAS DE METAIS.....	18

2.7 OS ELEMENTOS E A PLANTA.....	20
2.8 PARÂMETROS LEGAIS.....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 LOCALIZAÇÃO.....	25
3.2 AMOSTRAGEM DO SOLO.....	25
3.2.1 Solo da área de biorremediação.....	25
3.3 PREPARO DO SOLO PARA TESTES EM BANDEJA.....	27
3.3.1 Preparo do solo.....	27
3.3.2 Preparo da areia.....	27
3.4 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	27
3.4.1 Tratamentos.....	27
3.4.2 Preparo das bandejas.....	28
3.4.3 Casa de vegetação.....	29
3.4.4 Semeadura.....	29
3.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	30
3.5.1 Análises do solo.....	30
3.5.2 Análise dos resíduos.....	30
3.5.3 Coleta das plântulas.....	31
3.5.4 Determinação da biomassa vegetal.....	31
3.5.5 Teor de metais na parte aérea da plântula de aveia preta.....	32
3.6 ELABORAÇÃO DOS GRÁFICOS.....	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>33</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO.....	33
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS APLICADOS.....	35
4.3 TAXA DE APLICAÇÃO DOS RESÍDUOS.....	36
4.4 AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE.....	38
4.5 ABSORÇÃO DE METAIS NOS TESTES DE FITOTOXICIDADE.....	40

4.5.1 Avaliação dos teores de chumbo, zinco, cobre, níquel e cádmio.....	41
4.5.2 Avaliação dos teores de cromo, selênio, arsênio, vanádio e cobalto.....	46
4.5.3 Avaliação dos metais de importância agronômica, teores de alumínio, ferro, potássio, sódio, magnésio e manganês.....	52
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>59</b>
<b>6 ANEXOS.....</b>	<b>60</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>65</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO DE METAIS EM ESPÉCIES CONSIDERADAS HIPERACUMULADORAS.....	19
TABELA 2 - DILUIÇÕES SOLO CONTAMINADO:SOLO TESTEMUNHA:AREIA.....	28
TABELA 3 - LAUDO DE ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04 COMO SUBSTRATO.....	34
TABELA 4 - LAUDO DE ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04 COMO SUBSTRATO.....	34
TABELA 5 - ANÁLISE DO SOLO DE ORIGEM DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO E DA ÁREA TESTEMUNHA.....	35
TABELA 6 - COMPOSIÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE METAIS DAS BORRAS OLEOSAS.....	36
TABELA 7 - ACÚMULO MÁXIMO DE METAIS NO SOLO PARA USO AGRÍCOLA - NORMA EPA 800/81.....	37
TABELA 8 - ACOMPANHAMENTO DE METAIS APLICADOS NA ÁREA 4 CONFORME NORMA EPA 800/81.....	37
TABELA 9 - QUANTIDADE TOTAL DE RESÍDUOS APLICADOS NA ÁREA 4.....	38
TABELA 10 - SOBREVIVÊNCIA DAS PLÂNTULAS E BIOMASSA DA PARTE AÉREA DA AVEIA PRETA EM 1996.....	39
TABELA 11 - SOBREVIVÊNCIA DAS PLÂNTULAS E BIOMASSA DA PARTE AÉREA DA AVEIA PRETA EM 2000.....	39

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PROCESSO NATURAL DE FITODESCONTAMINAÇÃO DO SOLO PELAS PLANTAS.....	15
FIGURA 2 - PROCESSO NATURAL DE FITOESTABILIZAÇÃO DE CONTAMINANTES DO SOLO.....	16
FIGURA 3 - VISTA PARCIAL DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04.....	26
FIGURA 4 - VISTA PARCIAL DA ÁREA TESTEMUNHA.....	26
FIGURA 5 - VISTA PARCIAL DO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	28
FIGURA 6 - CASA DE VEGETAÇÃO.....	29
FIGURA 7 - COLETA DAS PLÂNTULAS.....	31
FIGURA 8 - CRESCIMENTO RELATIVO DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS DA AVEIA PRETA.....	40
FIGURA 9 - TEOR DE CHUMBO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	41
FIGURA 10 - TEOR DE CHUMBO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	41
FIGURA 11 - TEOR DE ZINCO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	42
FIGURA 12 - TEOR DE ZINCO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	42
FIGURA 13 - TEOR DE COBRE NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	43
FIGURA 14 - TEOR DE COBRE NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	43
FIGURA 15 - TEOR DE NÍQUEL NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	44
FIGURA 16 - TEOR DE NÍQUEL NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	44
FIGURA 17 - TEOR DE CÁDMIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	45
FIGURA 18 - TEOR DE CÁDMIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	45
FIGURA 19 - TEOR DE CROMO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	47
FIGURA 20 - TEOR DE CROMO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	47
FIGURA 21 - TEOR DE SELÊNIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	48

FIGURA 22 - TEOR DE SELÊNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	48
FIGURA 23 - TEOR DE ARSÊNIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	49
FIGURA 24 TEOR DE ARSÊNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	49
FIGURA 25 - TEOR DE VANÁDIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	50
FIGURA 26 - TEOR DE VANÁDIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	50
FIGURA 27 - TEOR DE COBALTO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	51
FIGURA 28 - TEOR DE COBALTO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	51
FIGURA 29 - TEOR DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	52
FIGURA 30 - TEOR DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	53
FIGURA 31 - TEOR DE FERRO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	54
FIGURA 32 - TEOR DE FERRO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	54
FIGURA 33 - TEOR DE POTÁSSIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	55
FIGURA 34 - TEOR DE POTÁSSIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	55
FIGURA 35 - TEOR DE SÓDIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	56
FIGURA 36 - TEOR DE SÓDIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	56
FIGURA 37 - TEOR DE MAGNÉSIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	57
FIGURA 38 - TEOR DE MAGNÉSIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	57
FIGURA 39 - TEOR DE MANGANÊS NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA.....	58
FIGURA 40 - TEOR DE MANGANÊS NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS.....	58

## RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo de estudo o desenvolvimento de metodologia para o monitoramento da biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos, através do uso de bioindicador vegetal para o estabelecimento de critérios na avaliação do estado de biorremediação do solo. Considera que as normas utilizadas em geral estabelecem somente os limites de metais pesados no solo, como exemplo, chumbo, zinco, cobre, níquel e cádmio. Após a biorremediação os metais são liberados para o solo podendo ser absorvidos pelas plantas. Para avaliação do processo que envolve a dinâmica e os efeitos do acúmulo dos metais pesados no solo durante a biodegradação e o monitoramento *in situ*, foram realizados testes em casa de vegetação para medir os teores de metais absorvidos na parte aérea das plântulas do fitoindicador *Avena strigosa* L. como critério de biorremediação de uma área experimental que recebeu resíduos da refinaria Presidente Getúlio Vargas - PETROBRAS. A taxa de aplicação, destes resíduos no solo da área experimental seguiu a norma EPA 800/81. Os tratamentos foram diluídos nas diferentes concentrações tóxicas de 0%, 25%, 50%, 75% e 100% na relação solo contaminado/solo testemunha. Os elementos avaliados na parte aérea das plântulas de *Avena strigosa* L., foram o chumbo, zinco, cobre, níquel, cádmio, cromo, selênio, arsênio, vanádio, cobalto, alumínio, ferro, potássio, sódio, magnésio e manganês. Os resultados obtidos indicam que à medida que ocorre a biorremediação do solo, nos testes de fitotoxicidade, ocorre a absorção de chumbo, zinco, níquel, selênio e arsênio mostrando que estes foram liberados devido a biodegradação. Os metais que variaram após a biodegradação no período observado e que apresentam potencial para serem utilizados como indicadores de biorremediação foram o chumbo, selênio e arsênio. A absorção de zinco é independente do grau de saturação do metal controlado pela norma EPA 800/81, indicando que o valor de saturação para este elemento é baixo. A absorção de metais nos testes de fitotoxicidade apresenta potencial para uso como critério de biorremediação e para medir o estado de biorremediação.



## ABSTRACT

The present work has as its objective, the study of the bioremediation management methods for oil residue contaminated soil, using for such, a vegetal bioindicator to establish the evaluation standards of the soil bioremediation status. This work consider also that the used patterns does establish the heavy metals limits in the soil only such as: lead, zinc, copper, nickel and cadmium. After bioremediation the metals are released into the soil, and then, they are apt to be absorbed by the plants. To evaluate the process involving the dynamic and effects of the heavy metal accumulation in soil during biodegradation, and the management *in situ*, tests has been conducted in greenhouse, in order to measure the metals absorption contents at the aerial part of the sprouts of the fitoindicator *Avena strigosa* L. as standards of bioremediation of an experimental area, on which, was dumped with oil Residues from Refinery Presidente Getúlio Vargas - PETROBRAS. The residues application rate at the experimental area soil followed the EPA 800/81 rule. The treatment were diluted in different toxic concentrations of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% in proportion of contaminated soil to the non contaminated soil. The metals evaluated at the aerial part of the sprouts of the *Avena strigosa* L., were lead, zinc, copper, nickel, cadmium, chromium, selenium, arsenic, vanadium, cobalt, aluminum, iron, potassium, magnesium and manganese. In fitotoxicity tests, the obtained results, does indicated that while bioremediation in the soil occurs, the soil absorbs lead, zinc, nickel, selenium and arsenic, therefore demonstrating that these metals were released due to biodegradation. During observation period, the metals that showed variation after biodegradation, and in virtue of these results, are the ones with real utilization potential as bioremediation indicators were: lead, selenium and arsenic. The zinc absorption rate is not related with the saturation rate stipulated by EPA 800/81 rule, indicating therefore, that the saturation rate for zinc is low. The metals absorption rate, at the fitotoxicity tests, demonstrates potential uses of the results, as patterns for bioremediation status.

# 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a disposição final de resíduos sólidos industriais é considerada como de difícil solução, devido a falta de tecnologia de baixo custo, pela política de licenciamento para a abertura e liberação de áreas para tratamento destes e pela constante mudança da legislação ambiental. Opções como a incineração e disposição em aterros requerem tecnologia sofisticada e de alto custo por tonelada tratada (CARVALHO & BARRAL, 1981; ANDREOLI & PEGORINI, 1998). Buscando eliminar estas dificuldades, muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos, utilizando-se de técnicas compatíveis com o meio ambiente, que possam ser aplicadas de maneira segura e econômica.

Entre as técnicas compatíveis com o meio ambiente podem utilizar-se de processos biotecnológicos de degradação através de fermentações, entre estas destacam-se a biorremediação e o *landfarming*, que, de uma maneira geral, tratam mais freqüentemente resíduos de atividades petrolíferas.

O *landfarming*, consiste em um sistema de tratamento onde uma população microbiana especializada recebe aplicação contínua de resíduo, imobilizado em uma camada reativa com solo, geralmente entre 15 - 45 cm de profundidade. Além da atividade microbiana, são controlados o pH, umidade através de drenagem, aeração e características dos contaminantes, tais como sua estrutura molecular e toxicidade aos microrganismos (API, 1983), este sistema apesar de seu potencial de aplicabilidade para o tratamento de diferentes resíduos vem sendo utilizado quase que exclusivamente para resíduos oleosos.

O uso de microrganismos naturais para decompor substâncias tóxicas ao meio ambiente em substâncias menos tóxicas ou que não sejam tóxicas é um processo natural, eficaz em relação ao custo e que pode ser aplicado a diferentes resíduos sólidos industriais.

A biorremediação é um processo biotecnológico que utiliza microrganismos do próprio solo ou inoculados para degradar resíduos. Entre suas vantagens, podemos citar que é um processo de baixo custo de implantação e operação e possibilita o tratamento e disposição final simultânea de uma ampla variedade de resíduos.

A biorremediação de resíduos oleosos geralmente ocorre numa velocidade lenta quando realizada pela população microbiana autóctone do solo, mas, pode ser acelerada, com o uso de microrganismos especializados, por exemplo os provenientes do *landfarming*, sendo uma medida biocorretiva que depende de vários fatores, entre eles, o tipo de microrganismo presente, as condições do local, a quantidade e toxicidade do produto químico contaminante e critérios como manter a qualidade do solo em condições agrícolas em relação ao teor de oxigênio, ressíntese microbiológica, humificação, textura do solo, estrutura do solo, nível de nutrientes, adição de fertilizantes e outros (CARVALHO & ALMEIDA, 1996). Convém ressaltar que se estes fatores não forem seguidos podem causar atraso na eficiência da biodegradação bem como o aumento de custos para recuperação do sistema.

Normas de aplicação dos processos de biorremediação já foram feitas por órgãos ligados ao meio ambiente como a CETESB em São Paulo (SIQUEIRA, 1994), no entanto, têm-se constatado como falha operacional a ausência de métodos de monitoramento do processo " *in loco*".

Para que a tecnologia da biorremediação alcance um nível ótimo na biodegradação do local contaminado, alguns fatores devem ser considerados, entre eles o uso de métodos apropriados para o monitoramento da biorremediação, como o uso de bioindicadores vegetais, que, podem também ser utilizados para a determinação de critérios de biorremediação.

Em diferentes estudos tem-se utilizado espécies vegetais para a limpeza de locais contaminados, principalmente com resíduos oleosos, alguns técnicos denominam estes vegetais como hiperacumuladores devido a sua capacidade de absorver os poluentes orgânicos e inorgânicos disponíveis no solo.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo o estudo e desenvolvimento de metodologia para o monitoramento da biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos, através do uso de bioindicador vegetal para o estabelecimento de critérios na avaliação do estado de biorremediação do solo.

Para tanto, foram realizados testes em casa de vegetação onde foram avaliados a biorremediação do solo no processo de biodegradação dos resíduos presentes com a liberação de metais, disponibilizando elementos que podem ser absorvidos pelas plântulas do fitoindicador *Avena strigosa* L..

Considerando a capacidade do fitoindicador em absorver os metais liberados no solo pelo o processo de biorremediação, este trabalho se concentra no estabelecimento de critérios e sugere a execução de testes de análise dos metais que mais variaram a cada três meses, como monitoramento da biorremediação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 TIPOS DE CONTAMINANTES

Durante décadas muitos resíduos industriais e residenciais têm sido descartados principalmente em corpos hídricos, contaminando o meio ambiente. Os processos de produção industrial resultam em material residual, que podem possuir toxicidade associados a eles. A comunidade científica enfrenta grandes desafios técnicos para gerenciar e tratar estes resíduos tóxicos, uma vez que a legislação ambiental norte americana responsabiliza os produtores e entidades responsáveis pelo controle destes produtos aos danos causados ao meio ambiente enquanto estes não forem tratados (HAIMANN, 1995).

Um grupo particular de contaminantes que é crítico e preocupante são os hidrocarbonetos. O primeiro caso documentado de contaminação por hidrocarbonetos ocorreu na Alemanha, no início do século XIX. Naquela época, um aumento na produção de tinturas e de orgânicos químicos desenvolvidos na indústria de carvão contaminaram o meio ambiente por hidrocarbonetos, cinquenta anos mais tarde as fontes primárias de contaminação por hidrocarbonetos, eram as fábricas de gás (Manufactured Gas Plant-MGP), época em que o aquecimento e a iluminação de casas e indústrias provinham da gazificação do carvão (CUTRIGHT & LEE, 1994).

Produtos químicos xenobiontes produzidos pela atividade humana, permitiu avanços em problemas de âmbito ambiental, como por exemplo; controle de pragas, utilização de embalagens de plástico, uso de eletricidade convertida por transformadores com bifenil-policlorados (P.C.B.) e o uso de detergentes. Muitos destes produtos podem ser biodegradados por enzimas existentes na natureza, outros porém, não estão sujeitos a ação destas e acumulam-se gradativamente no ambiente. Inicialmente não existia uma preocupação com esta questão, com o tempo foram surgindo problemas que exigiam um cuidado específico com a degradação destes compostos (LANGENBACH, 1994).

A contaminação do meio ambiente por hidrocarbonetos ocorrem na produção de processos industriais da refinação de petróleo, produção de coque e estações de tratamento de esgoto. É comum a ocorrência de acidentes como vazamentos de tanques de depósito subterrâneos e vazamentos acidentais como o causado pelo naufrágio do navio Exxon Valdez no Alasca. Existem estimadamente de 3.000 a 4.000 locais contaminados por hidrocarbonetos na América do Norte, geralmente estes locais representam grandes áreas e a tecnologia mais indicada para tratamento destas é a biorremediação (CUTRIGHT & LEE, 1994).

O alvo apropriado para o desenvolvimento de novas tecnologias de biorremediação da superfície do solo para solos contaminados com orgânicos são (CUNNINGHAM *et al.*, 1996b):

1. Produtos e subprodutos de petróleo
2. Indústrias de organoclorados (PCB's, diclorobenzeno, etc)
3. Indústrias de nitroaromáticos (TNT, DNT, etc)
4. Resíduos de pesticidas que são historicamente "sem rótulos"

#### 2.1.1 Resíduos oleosos

Os resíduos oleosos são geralmente classificados como Classe I (ABNT, 1987), que define estes como materiais tóxicos, que devem ser tratados ou armazenados de maneira a não causarem danos ao homem ou ao meio ambiente. As borras oleosas constituem-se de uma variedade de compostos sólidos, semi-sólidos, pastosos e líquidos originados de diferentes processos industriais.

#### 2.1.2 Composição das borras oleosas

A composição das borras é bastante variável, visto que são diversas fontes que as originam e fatores como qualidade do petróleo refinado, eficiência de equipamentos e qualidade no processo interferem na sua composição. Basicamente, constitui-se de água, areia, graxas, óleos, compostos orgânicos e minerais, compostos químicos e metais pesados como Zn, Cr, Vn, Pb, Fe e outros em pequenas quantidades (CASARINI, 1971 citado por MIELNICZUK, 1991), sendo que a fase oleosa é composta por uma mistura complexa de numerosos constituintes orgânicos (NELSON, 1949).

Os metais pesados podem ser chamados de elemento traço ou metal traço, mas o termo metal pesado parece ter sido o mais utilizado para designar os metais que causam danos ao ar, água,

solo, plantas e animais. A conotação de agressor ao ambiente e aos seres vivos está diretamente ligada a dose em que se apresenta, alguns deles são indispensáveis na constituição e fisiologia de animais e plantas (SOUZA, 1999).

Quimicamente, é considerado um metal pesado o elemento que possui peso específico maior que  $5 \text{ g/cm}^3$  ou que possui um número atômico maior que vinte. O excesso destes elementos no meio ambiente é considerado poluição (ecotoxicidade); aos animais e seres humanos, o desbalanceamento quantitativo causa alterações fisiológicas promotoras de doenças (toxicidade) e no caso das plantas, principalmente as produtoras de alimentos, causam a redução da produtividade (fitotoxicidade) (MALAVOLTA, 1994).

## 2.2 TECNOLOGIAS DE TRATAMENTOS PARA RESÍDUOS OLEOSOS

O solo é uma das opções para tratamento de resíduos industriais, a biorremediação utilizada principalmente pela indústria petrolífera, constitui-se de locais destinados ao recebimento de borras oleosas provenientes do processo de refino de petróleo e que são posteriormente recuperadas, tomando-os o mais próximo possível de suas características originais (SOUZA, 1994).

O sistema de tratamento de solo contaminado por resíduos oleosos vem sendo usado como tecnologia de depósito final nas refinarias americanas há mais de 25 anos (API, 1983), os sistemas de tratamento no solo mais utilizados são a biorremediação e o *landfarming*.

### 2.2.1 *Landfarming*

O *landfarming* pode ser definido como uma tecnologia gerenciada que envolve a aplicação controlada de resíduo e a incorporação deste na superfície do solo, geralmente uma camada reativa de 15 a 45 cm de profundidade chamada de zona de incorporação (API, 1983).

Geralmente, são formados por áreas com cerca de 0,5 - 1,0 ha, denominadas células de biodegradação as quais recebem uma camada compactada de argila para evitar a lixiviação de metais e compostos orgânicos poluentes das águas subterrâneas, um sistema de drenagem e uma camada reativa de solo, preparada para receber o resíduo (RANGEL *et al.*, 1988).

MIELNICZUK (1991), relata que a alta massa e diversidade microbiana, assim como a abundante representação de bactérias e fungos capazes de metabolizar compostos orgânicos, torna o solo um ambiente relativamente favorável à biodegradação de resíduos como a borra oleosa.

O potencial de degradabilidade de hidrocarbonetos de petróleo podem ser estimados baseados na estrutura química do produto. Estruturas ramificadas típicas como o asfalto geralmente diminuem a taxa de biodegradação, compostos aromáticos são biodegradados mais vagorosamente que os alcanos (ENGLERT *et al.*, 1993). De maneira geral, os processos de biodegradação de hidrocarbonetos são realizados pela decomposição por microrganismos do solo. A biodegradação de mais de um composto complexo é feita pelo esforço coletivo de microrganismos. Cada um ataca seletivamente um composto para transformação de maneira complementar e sequencial (METTING, 1992 citado por ENGLERT *et al.*, 1993).

Durante o processo de biodegradação os hidrocarbonetos são convertidos pelos microrganismos do solo sob condições ideais, em dióxido de carbono, água e biomassa (HUESEMANN & MOORE, 1993 citado por HUESEMANN, 1994). A capacidade de resposta da população microbiana do solo à adição de petróleo, produtos de petróleo e outros hidrocarbonetos ao solo, leva o desaparecimento do substrato agregado (ALEXANDER, 1980).

Apesar das vantagens citadas na literatura, o sistema *landfarming* muitas vezes torna-se pouco eficiente na biodegradação dos resíduos, principalmente pela ausência de monitoramento de fatores que alteram a habilidade de degradação pelos microrganismos, como aeração, umidade, pH da camada reativa, conteúdo de nutrientes, toxidez, frequência e taxa de aplicação do resíduo (DIBBLE & BARTHA, 1979). CONCAWE (1980) e DINEEN *et al.* (1992) citam também o estímulo da população microbiana com a adição de nutrientes, que são limitantes na degradação de hidrocarbonetos do petróleo.

### 2.2.2 Biorremediação

A biorremediação pode ser definida como um processo biotecnológico que utiliza-se de microrganismos do solo ou inoculados para biodegradar resíduos (BARTHA, 1994 citado por GRUIZ & KRISTON, 1995). A principal razão para aplicar culturas iniciais de microrganismos em solo contaminado por hidrocarbonetos para a biodegradação é diminuir o período de biorremediação e



aumentar a taxa inicial de biodegradação (GRUIZ & KRISTON, 1995), estes microrganismos especializados geralmente não são encontrados em grande quantidade no solo e após comprovada sua utilização como inoculante, algumas empresas começaram a desenvolver e comercializar este tipo de tecnologia (FISHER *et al.*, 1995).

A eficiência por tratamentos de biorremediação depende de inúmeros fatores, tais como: característica do resíduo, presença de condições microbiológicas ótimas, seleção correta da tecnologia de biorremediação e o uso de métodos analíticos apropriados para determinar o tipo e a extensão da contaminação (HUESEMANN, 1994).

Técnicas como a inoculação de microrganismos hábeis na degradação de compostos oleosos, aplicação de enzimas imobilizadas e o uso de plantas para conter e transformar poluentes, são utilizadas para melhorar a capacidade de degradação dos resíduos oleosos no solo (BOLLAG *et al.*, 1994).

A biorremediação pode ser *ex situ*, na qual o solo contaminado é transportado até o local em que será feito o tratamento de limpeza do poluente sendo, geralmente feito na superfície do solo. Enquanto que a biorremediação *in situ*, dá-se geralmente na sub-superfície do solo e o processo de retirada do poluente é feito no próprio local da contaminação (SKLADANY *et al.*, 1992).

A importância da capacidade de biorremediação com animais e plantas é inegável, mas suas potencialidades são menores do que aquelas oferecidas pelos microrganismos. Nos animais, nas plantas e nos microrganismos o metabolismo e o destino dos xenobiontes guardam diferenças importantes. Nos animais superiores, as reações ocorrem em órgãos especializados, como o fígado, através da função das oxidases mistas, como a família dos citocromos P - 450 (LANGENBACH, 1994). Nas plantas não há órgãos de excreção, observa-se freqüentemente a formação de conjugados solúveis e insolúveis, que ficam imobilizados em determinados tecidos por longo tempo ou se destacam da planta por senescência (SHIMABURUKO *et al.*, 1992 citado por LANGENBACH, 1994).

O uso das plantas associadas à microbiota vem sendo considerado como um avanço no processo de biorremediação, que através das modificações causadas no solo e das técnicas agronômicas, podem remover, conter e promover menos prejuízos ambientais causados por contaminantes (SOUZA, 1999).

### 2.2.3 Tempo de biorremediação

A estimativa do tempo de biorremediação é complexa e de difícil obtenção, geralmente é estimada a demanda de oxigênio consumida pela população microbiana do solo. O termo meia vida de degradação é empregado para expressar o tempo em que 50% do composto é degradado. O aumento da quantidade de CO<sub>2</sub> eliminado pela população microbiana indica a multiplicação de bactérias, fungos e actinomicetos (VANDECAVEYE, 1939) sendo que este aumento na atividade respiratória sugere que o composto orgânico está em processo de degradação.

## 2.3 PRINCIPAIS FATORES QUE INTERFEREM NA BIODEGRADAÇÃO DOS RESÍDUOS

### 2.3.1 Características do resíduo

As características físico-químicas como densidade, solubilidade e volatilidade dos resíduos devem ser consideradas no processo de biorremediação. Compostos menos densos que a água são mais facilmente degradados devido a dificuldade de lixiviação. Altas taxas de degradação são conseguidas quando o contaminante possui baixo peso molecular (SKLADANY *et al.*, 1992).

### 2.3.2 Conteúdo de nutrientes

Os elementos N e P são os nutrientes mais requisitados na biodegradação no solo. As quantidades necessárias destes elementos são estabelecidas pela quantidade de C disponível, incluindo-se o C do resíduo. Geralmente as relações N:P:K de 100:10:1, 120:10:1 e 100:4:1 são utilizadas na biodegradação de resíduos no solo (GUDIN & SYRATT, 1975). Estudos realizados por GUDIN e SYRATT (1975), comprovaram o aumento da degradação de resíduos oleosos de refinaria adicionando N na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, também verificaram a diminuição da relação C:N e o aumento na competitividade por este nutriente entre a população microbiana e a vegetação.

BROWN *et al.* (1983) também verificou maior taxa de degradação de lodos oleosos de refinarias petroquímicas com a incorporação no solo de uma mistura de N, P e K na taxa de 1,2% do conteúdo de carbono orgânico no solo.

Muitas vezes o próprio fertilizante pode ser um fator limitante na degradação de resíduos

oleosos devido a sua pronta disponibilidade aos microrganismos. Uma alternativa para evitar este efeito é a utilização de fertilizante na forma oleofílica, como por exemplo a uréia parafinizada (BEWLEY, 1992).

### 2.3.3 Temperatura

A temperatura é um importante fator nas reações bioquímicas promovidas pela população microbiana. Geralmente a atividade microbiana decresce com a diminuição da temperatura (SKLADANY *et al.*; 1992; DIBBLE & BARTHA, 1979).

A oxidação de compostos oleosos geralmente ocorre no intervalo de 0 até 55°C. Em locais onde encontram-se microrganismos termófilos, a velocidade de reação a temperaturas elevadas é bastante rápida. Na temperatura de 0°C ou abaixo disto, a degradação desses compostos é extremamente lenta (ALEXANDER, 1980).

### 2.3.4 Umidade

A presença da água é fundamental para a comunidade microbiana. Entretanto a presença de oxigênio é o maior limitante para microrganismos aeróbicos. A falta de oxigênio é causada principalmente pelo excesso de água no solo (SKLADANY *et al.*, 1992).

Na condição de inundação, a população microbiana aeróbia se reduz, incentivando o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios ou resistentes aos baixos níveis de oxigênio. A quantidade ótima de umidade para a população microbiana está em torno de 50 a 60% da capacidade de retenção de umidade do solo (ALEXANDER, 1980).

### 2.3.5 pH

No processo de biorremediação, é necessário que o pH seja compatível com os microrganismos. Bactérias desenvolvem-se com um pH ótimo entre 5 e 9, enquanto que os fungos que degradam compostos complexos, tem o pH ótimo de 5 ou menos (SKALADANY *et al.*, 1992).

Muitas espécies de fungos desenvolvem-se em grandes intervalos de pH, desde o extremo de 9 até 3 a 4. Mas pelo fato das bactérias e actinomicetos dominarem em solo de pH próximo ao neutro, os fungos geralmente dominam as áreas com baixo pH (ALEXANDER, 1980).

### 2.3.6 Metais pesados

Muitas vezes a indisponibilidade do metal ao microrganismo, pode dar condições para o desenvolvimento da população microbiana e da vegetação, como verificado num vazamento de gás natural ocorrido em 1929, onde a quantidade de Mn disponível passou de 0 para 1,6 meq, mas com contínuas arações do solo, este conteúdo foi indisponibilizado aos microrganismos e à vegetação (SCHOLLENBERGER, 1930).

## 2.4 USO DE VEGETAIS PARA BIORREMEDIAÇÃO

Primeiramente, pensamos nas plantas como uma fonte de madeira, alimento e fibras, em segundo plano também as apreciamos por razões estéticas, bem como por razões altruístas provendo habitat para outras espécies. Entretanto, seu valor como contra-balança ambiental para processos de industrialização tem sido crescente. Entre estes processos estão a queima de combustíveis fósseis, geração de resíduos como esgoto, sólidos orgânicos e inorgânicos e águas residuais (CUNNINGHAM & OW, 1996a).

A tecnologia que usa plantas modificadas geneticamente ou plantas que ocorrem naturalmente para a biorremediação de ambientes contaminados, utiliza o sistema da planta e a sua comunidade microbiana para remover, degradar ou estabilizar contaminantes no ambiente. O ganho da comunidade microbiana, ou seja, da rizosfera, ocorre no solo que cerca as raízes das plantas, substâncias naturais emitidas pelas raízes das plantas, servem como substrato para a microflora da rizosfera nativa. O resultado é um aumento de mais diversas populações microbiais capaz de aumentar a taxa de tratamento de orgânicos perigosos presentes, (FLATHMAN & LANZA, 1998).

Em 1995, pesquisadores da Universidade Estadual do Kansas realizam estudo em um terminal de abastecimento da marinha em Graney Island - Virgínia, o local estava contaminado com diesel há uma profundidade de sessenta e um centímetros, a concentração inicial de PHC variava de 2500 a 3000 ppm, após dois anos de acompanhamento, os resultados desta pesquisa demonstraram

uma redução em concentração de PHC para os tratamentos com cravo branco, grama alta e grama das bermudas de 50%, 45% e 41% respectivamente, (FLATHMAN & LANZA, 1998).

Algumas plantas são utilizadas para retirar metais do solo. Estudos realizados com o acúmulo de selênio em canola (*Brassica napus*) em solo de diferentes profundidades no Reservatório de Kersterson, sob condições controladas em casa de vegetação, mostraram que a carga de selênio no solo em condições de campo era aproximadamente 50% àquela observada em casa de vegetação. Esta relação pode ser útil para a operação da biorremediação em campo usando informações geradas em casa de vegetação (BAÑUELOS *et al.*, 1998).

A relação planta-solo se dá por reações de transferência em diferentes compartimentos para o crescimento do vegetal através de macronutrientes e micronutrientes, entretanto qualquer manifestação externa de anormalidade no vegetal pode ter ocorrido por qualquer elemento essencial para sua nutrição causando toxidez à planta. A toxidez de um elemento deve ser acompanhada e avaliada por algumas variáveis, como por exemplo; a diminuição no crescimento ou redução na colheita, sintomas visíveis e concentração do elemento no tecido (MALAVOLTA, 1994).

A toxidez de metais pesados para as plantas e eventualmente para o animal tem duas causas, a própria natureza e o homem, isto é antropogênia. Nos dois casos, evidentemente há somente um motivo para que a toxidez se manifeste, através do aumento na disponibilidade do elemento ao solo (NASCIMENTO NETO, 1996a).

O uso de espécies vegetais fornecem melhorias na fertilidade e na atividade biológica do solo, concluindo-se que a fertilidade é um pré-requisito nos processos de recuperação e conservação do solo (LUCCHESI, 1994).

#### 2.4.1 Fitorremediação

O termo genérico fitorremediação consiste do prefixo grego *phyto* = *planta*, anexada a raiz latina *remedium* = *corrigir ou remover o mal*. A fitorremediação pode ser definida como o uso de plantas e sua microbiota associada a retificação do solo e técnicas agronômicas para remover, conter ou tornar um contaminante sem perigo ambiental. O termo fitorremediação, assim como o termo remediação por si só é dividido em processos que descontaminam a matriz do solo (extrair, degradar, volatilizar) e processos que estabilizam o contaminante no solo com a finalidade de reduzir e prever

posteriores danos ambientais (seqüestra, solidificar, precipitar, etc.). Técnicas e conceitos de fitorremediação são práticas desenvolvidas há muitos anos de trabalho por outros pesquisadores nas áreas de recuperação de terra, *landfarming* de resíduos de óleo, engenharia sanitária, química do solo, fisiologia das plantas e uso de pesticidas (CUNNINGHAM *et al.*, 1996b).

O sistema de uso baseado em plantas ou fitorremediação não é novo. De fato o primeiro sistema baseado em plantas foi há 300 anos atrás na Alemanha para tratamento de esgoto do Município. A significativa diminuição de concentração de uma vasta gama de variedades de poluentes industriais, foi provado que ocorre a medida que as águas passam por intermédio destes vegetais (CUNNINGHAM *et al.*, 1996b).

O desenvolvimento do sistema de remediação efetivo baseado em plantas para contaminantes orgânicos é economicamente viável e socialmente responsável. Muito embora o custo de um tratamento para descontaminação do solo dependa das características e da quantidade do poluente, estima-se que, para o tratamento de 1 ha de solo, a fitorremediação custe três vezes menos que um tratamento biológico *in situ* (CUNNINGHAM *et al.*, 1996b) e cerca de 24 vezes menos, quando utilizados bioreatores e lavagem do solo (BERTI, 1996). Este último autor, em seu levantamento de custos para remediar uma área de 10 acres, estimou em U\$12 milhões para a retirada do solo contaminado e posterior tratamento utilizando técnicas de solidificação e estabilização do solo, U\$ 6 milhões para lavagem do solo, U\$ 600.000 para capeamento do solo e U\$ 250.000 utilizando a fitorremediação. Estes custos podem aumentar dependendo do nível de monitoramento, custos analíticos, segurança, instalação de cercas e exigências de segurança e proteção a nível pessoal.

A tecnologia de fitorremediação está se tomando rapidamente reconhecida como método de uso efetivo para a remediação de ambientes contaminados com metais tóxicos, radionuclídeos e por orgânicos perigosos, a uma fração do custo de uma tecnologia convencional. Muitas técnicas de agricultura aceitas para cultivar, colher, e processar plantas estão agora sendo adaptadas para a fitorremediação. De maneira geral a aplicação de fitorremediação tem sido dirigida por suas vantagens técnicas e econômicas sobre a forma convencional (FLATHMAN & LANZA, 1998).

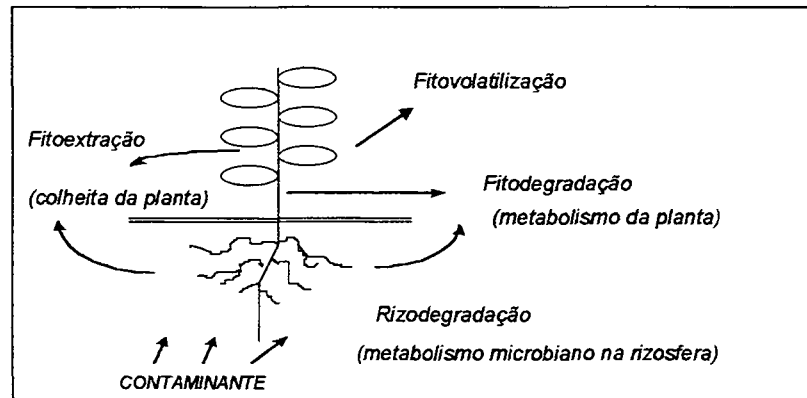
No processo de remediação de solos contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos, algumas espécies de plantas possuem a habilidade de reter ou biovolatilizar o contaminante

(BROOKS, 1998), bem como a capacidade de “bombear” o contaminante e removê-lo do solo (phytodecontamination) ou imobilizá-lo (phytostabilization) (ROCK, 1996).

A fitodescontaminação é uma subdivisão da fitorremediação (Figura 1), na qual a concentração do contaminante visado no solo é reduzida a níveis aceitáveis através da ação das plantas, da sua microflora associada e técnicas agronômicas de solo. Neste processo, as plantas possuem os seguintes modos de ação:

1. Fitoextração - é a absorção de um contaminante nos tecidos de uma planta e o subsequente corte da planta para sua destruição, FLATHMANN & LANZA (1998) discutem casos que utilizam a fitoextração e fitovolatilização de selênio contaminante de solos do oeste da Califórnia.
2. Fitovolatilização - plantas e a sua atividade microbiana associada que auxilia a aumentar a taxa de volatilização do contaminante e do solo contaminado. A volatilização ocorre pela raiz e pelos brotos das plantas, bem como por intermédio da superfície do solo, BROOKS (1998), avaliou a fitovolatilização do mercúrio, arsênio e selênio de uma área contaminada com estes metais.
3. Fitodegradação - são plantas que absorvem o contaminante e/ou metabolizam um material benigno ao meio ambiente.
4. Rizodegradação - são raízes de plantas e sua microflora associada e/ou produtos excretados que destroem o contaminante na área das raízes das plantas.

FIGURA 1 - PROCESSO NATURAL DE FITODESCONTAMINAÇÃO DO SOLO PELAS PLANTAS



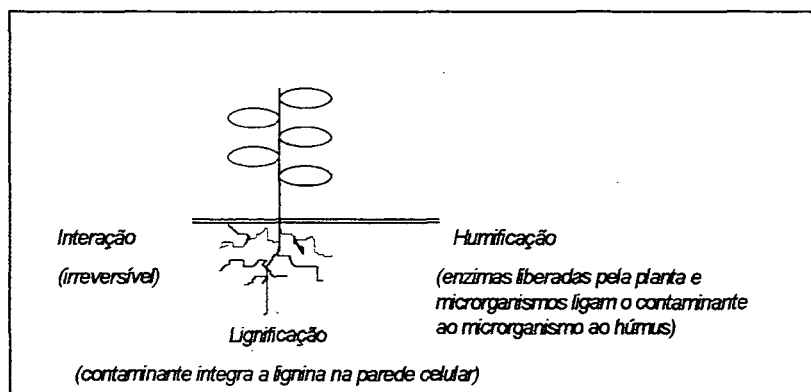
FONTE : SOUZA, 1999

A fitoestabilização imobiliza o contaminante do solo, através da indisponibilidade à população microbiana e imobilidade no solo (Figura 2). Este processo ocorre naturalmente e é amplamente estudado:

1. Humificação - é a incorporação dos contaminantes no húmus do solo, resultando em baixa disponibilidade do contaminante
2. Lignificação - são componentes tóxicos que se tomam irreversivelmente presos nas células das plantas e um constituinte da célula vegetal
3. Ligação irreversível - o contaminante é irreversivelmente ligado ao solo.



FIGURA 2 - PROCESSO NATURAL DE FITOESTABILIZAÇÃO DE CONTAMINANTES DO SOLO.



FONTE : SOUZA, 1999

Alguns autores criticam a capacidade do crescimento de plantas em áreas contaminadas. BAKER, 1970 relatou que o contaminante após penetrado e acumulado nas plantas causam danos às membranas das células. DE JONG, 1980 relatou que contaminantes criam condições insatisfatórias para o crescimento de plantas provavelmente pela falta de aeração do solo.

A aceitabilidade desse tipo de biorremediação reside nos processos que devem ser demonstrados como aceitáveis para a satisfação dos cientistas, legisladores e do público em geral.

#### 2.4.1.1 Limitações de uso

As principais limitações para utilização da fitorremediação são citadas por alguns autores (McCUTCHEON; 1996; CUNNINGHAM *et al.*, 1996b; CUNNINGHAM & OW, 1996a; BROWN, 1995) e consistem no tempo de degradação do contaminante até níveis aceitáveis, baixa profundidade do lençol freático, podendo proporcionar a falta de oxigênio às raízes das plantas, textura do solo e condições ambientais desfavoráveis. A baixa biodisponibilidade, a heterogeneidade dos contaminantes no sítio, bem como a complexidade do composto quanto à baixa ou alta capacidade de adsorção, também diminuem a eficiência de ação e restringem a capacidade de descontaminação pelas plantas.

A vegetação envolvida na fitorremediação, quando pastoreada por animais que fazem parte de uma cadeia alimentar, pode conter um excesso de metais ou metabólicos do contaminante,

constituindo-se num problema sanitário que é agravado pelo desconhecimento de uma regulamentação para utilização de plantas no processo de descontaminação do solo (McCUTCHEON, 1996).

Testes de fitotoxicidade das espécies aos contaminantes são convenientes antes da implantação do processo de fitorremediação. Geralmente, a percentagem de germinação, desenvolvimento vegetativo devem ser considerados (PAULINO, 1996; NASCIMENTO NETO, 1996b; BAUD, 1993).

## 2.5 PLANTAS COMO INDICADORAS DE POLUIÇÃO

As folhas das plantas de superfície serosa absorvem compostos voláteis, inclusive poluentes e PAH's. As plantas associadas a sua microflora tem demonstrado que agem como biofiltro de contaminantes no ar. Uma área promissora é a engenharia genética para plantas que visa aumentar a absorção orgânica, bem como aumentar o metabolismo do  $\text{NO}_x$  e  $\text{SO}_x$ , que são produtos de combustão interna de veículos (CUNNINGHAM *et al.*, 1996b).

O uso de plantas estacionárias com a finalidade de remediar correntes de ar e água que passam por elas é relativamente bem avançado se compararmos com o uso de plantas para a biorremediação em solos contaminados (ALI, 1993; LEWIS, 1995).

Alguns trabalhos destacam a utilização de leguminosas que, através da simbiose com bactérias nitrificantes, auxiliam seu próprio conteúdo de nitrogênio. Geralmente, este nutriente é um fator limitante devido à rápida mineralização de compostos orgânicos (CARR, 1919; PRADO & LÓPEZ, 1995; GUDIN & SYRATT, 1975).

A utilização de espécies florestais, para descontaminação de solos, vem complementar as pesquisas com espécies forrageiras que são pouco eficientes na extração de metais em maiores profundidades do solo. Por outro lado, ENTRY & EMMINGHAM (1996) comprovaram melhor degradação de compostos orgânicos como Atrazina e 2,4 D, nas camadas orgânicas e no solo mineral de coníferas, quando comparado com campos de forrageiras e florestas decíduas.

## 2.6 PLANTAS BIOACUMULADORAS DE METAIS

Pesquisas vêm mostrando que é viável a descontaminação de solos com altos teores de metais em poucos anos, utilizando-se de manejos agronômicos adequados, resultados de experiências anteriores com diferentes espécies, bem como favorecendo a disponibilização dos metais na solução do solo (ERNST *et al.*, 1996).

Plantas que acumulam metais até cerca de 1 a 3% de seu peso seco, podem ser consideradas como hiperacumuladoras e possuem potencialidade em relação à extração de metais pesados em solos contaminados (CUNNINGHAM & OW, 1996a). A toxidez por metais pesados nas plantas é causada pelo excesso destes metais que estão disponíveis no solo (KABATA & PENDIAS, 1985). As plantas absorvedoras de metais pesados são chamadas de hiperacumuladores e poderão crescer e serem colhidas como feno, sendo queimado o feno permite que se recupere e se reciclem metais, as cinzas são similares ao minério comercial, podendo ser vendida como biominério processo este denominado de remediação (CHANEY citado por COMIS, 1992).

O engenheiro agrônomo RUFUS CHANEY é um “expert” em metais pesados do Laboratório de Química do Serviço de Pesquisa Ambiental, do Departamento de Agricultura em Beltsnild, Maryland, afirma que o custo do uso das plantas para limpar solos poluídos poderá ser menor que 1/10 do custo de escavar e transportar o solo perigoso para um *landfill*, ou concretagem. CHANEY, diz ainda que estes custos poderão ser superados pela venda dos metais pesados recuperados das plantas. Futuramente quando estas plantas forem usadas para limpar solos contaminados em locais de fundição e mineração, *landfills* e disposição de lixo nuclear, terras aráveis ou qualquer outro local urbano ou rural que tenham sido contaminados com chumbo, cádmio, zinco, níquel ou isótopos radioativos, tais como, urânio e cobalto, possivelmente estas absorveriam material tóxico ou isótopos por intermédio de suas raízes e transportariam para o caule e folhas, onde eles poderão ser facilmente removidos por colheita (COMIS, 1992). A Tabela 1 mostra algumas destas espécies caracterizadas como hiperacumuladoras de metais.

TABELA 1: CONCENTRAÇÃO DE METAIS EM ESPÉCIES CONSIDERADAS HIPERACUMULADORAS

METAL	ESPÉCIES	TEORES (mg/kg)
Cd	<i>Thlaspi caerulenscens</i>	1800 <sup>(a)</sup>
Cu	<i>Ipomoea alpina</i>	12300 <sup>(a)</sup>
Co	<i>Haumaniastrum robertii</i>	10200 <sup>(a)</sup>
Pb	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8200 <sup>(a)</sup>
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	51800 <sup>(a)</sup>
Ni	<i>Psychotria douarrei</i>	47500 <sup>(a)</sup>
	<i>Sebertia acuminata</i>	11% (p. úmido da seiva) <sup>(b)</sup>
Zn	<i>Thlaspi caerulenscens</i>	51600 <sup>(c)</sup>

FONTE: CUNNINGHAM; OW (1996) COM DADOS UTILIZADOS DE <sup>(a)</sup> BAKER; WALKER (1990), <sup>(b)</sup> JAFFRÉ *et al.* (1994), <sup>(c)</sup> BROWN *et al.* (1994).

Um experimento com sorgo, centeio e grama, foi realizado com o objetivo de reduzir a concentração total de hidrocarbótenos no solo, com o uso da grama e centeio a concentração do elemento foi reduzido em 50% e para sorgo a redução foi de 25% (CUNNINGHAM & OW, 1996a).

Algumas espécies de plantas forrageiras e arbóreas vêm sendo catalogadas como grandes extratoras de metais do solo. Muitas vezes, as plantas que possuem esta habilidade, não desenvolvem-se, por razões ainda desconhecidas, em áreas que não estejam severamente contaminadas, por esta razão, são comumente chamadas de metalófitas (COMIS, 1992). Possivelmente estas plantas sejam naturalmente tolerantes a estes ambientes, como as plantas que se desenvolvem em solos extremamente ácidos ou básicos. Essencialmente, essa tolerância é explicada por três mecanismos que ocorrem na planta: limitação na absorção do metal, compartimentação do metal e desintoxicação bioquímica (KABATA & PENDIAS, 1985).

## 2.7 OS ELEMENTOS E A PLANTA

No grupo dos metais pesados, MALAVOLTA (1994) apresenta como essenciais o Cu, Fe, Mn, Mo, Zn. Como benéficos o Co, Ni e V. Não essenciais ou sem função o Al, Cd, Cr, Hg, Pb. Os elementos do grupo dos essenciais e benéficos possuem cada qual a sua função, portanto, podem também ser considerados como micronutrientes.

Após a adição de meios nutritivos como técnica experimental, verificou-se que as plantas não se desenvolviam sem os nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S e Fe. Foram, então, denominados de macronutrientes, pois são exigidos em quantidades relativamente altas. Na medida em que foram desenvolvendo-se as pesquisas dentro da nutrição de plantas, novos elementos foram sendo incorporados na lista dos essenciais. Entretanto, como as quantidades exigidas pelas plantas eram muito inferiores aos dos macronutrientes, foram então chamados de micronutrientes (EPSTEIN, 1975).

O potássio é intensamente exigido pelas plantas, possui alta mobilidade tanto no solo como no interior dos tecidos vegetais. A textura do solo também é um dos principais fatores que influenciam a disponibilidade do potássio. Solos argilosos geralmente possuem maiores reservas disponíveis do que em solos arenosos (MENGEL & KIRKBY, 1975). Usualmente o potássio solúvel é menor as exigências das plantas, tornando ambas frações trocável e incorporada à matéria orgânica, como sendo de grande importância no suprimento nutricional (MALAVOLTA, 1980).

Os microrganismos podem solubilizar o potássio através da mineralização da matéria orgânica, principalmente através da síntese de ácidos orgânicos. Espécies como *Bacillus* e *Pseudomonas*, entre as bactérias, e *Aspergillus*, *Mucor* e *Penicillium*, entre os fungos, são os principais microrganismos que incorporam o potássio na sua biomassa (ALEXANDER, 1980).

Nas plantas as principais funções do potássio são de ativação enzimática, síntese protéica, fixação do CO<sub>2</sub> durante o processo fotossintético, promoção do potencial osmótico responsável pelo turgor, balanço hídrico, transporte floemático e movimentos estomáticos (MARSCHNER, 1993).

O magnésio no solo têm o mesmo comportamento que o potássio quanto à disponibilidade. Pode estar nas fases disponível, não disponível ou em solução. A maior fração está na forma

indisponível, fazendo parte dos minerais primários (piroxênios, anfibólios, olivina, turmalina, muscovita e biotita) e secundários (montmorilonita, illita, clorita, vermiculita) (MENGEL & KIRKBY, 1975).

Na planta geralmente ocupa 0,5% da massa seca e sua absorção geralmente é menor que a do cálcio e potássio. Assemelha-se ao cálcio quando se acumula em altos níveis principalmente nas folhas mais velhas e, ao contrário deste, é móvel através do floema. A função bioquímica mais conhecida do magnésio é a formação de moléculas de clorofila, entretanto, somente 15 a 20% do conteúdo total de magnésio na planta é envolvido neste processo (MENGEL & KIRKBY, 1975).

A principal relação com outro nutriente é a proporção de magnésio e potássio solúveis. Altos níveis de potássio podem restringir a absorção do magnésio, o mesmo acontece com altos teores de amônia no solo. O teor de magnésio na solução do solo, em geral, está entre o cálcio e o potássio (MALAVOLTA, 1976).

O cálcio no solo pode estar nas formas de carbonatos (metamórficos ou sedimentares) sulfatos e silicatos, os últimos em altos teores nos minerais primários como anortita, augita, ipidoto e apatita e teores mais baixos nos minerais secundários (MALAVOLTA, 1980). Na planta é mais acumulado nas raízes do que nas partes aéreas, quando acumula-se nas folhas mais velhas e, pelo fato de possuir baixa translocação no floema, dificilmente é translocado para tecidos meristemáticos. Esta baixa mobilidade na planta tem razão ainda desconhecida, mas, supõe-se que o cálcio precipita-se no floema na forma de fosfato de cálcio (MENGEL & KIRKBY, 1975).

O cálcio tem função estrutural importante pois compõe a lamela média da parede celular na forma de pectato de cálcio. Este fato somado a dificuldade de translocação justifica sua importância no processo de divisão e alongamento das células das raízes (MENGEL & KIRKBY, 1975; MALAVOLTA, 1980). Nas folhas, MARSCHNER (1993), comenta a importância do oxalato de cálcio para a resistência contra infecção fúngica.

MARSCHNER, (1993) e MENGEL & KIRKBY (1975) citam o cálcio como um dos responsáveis pela variação na permeabilidade da membrana celular que é causada pela troca de cálcio da célula pelo excesso de hidrogênio livre do meio. De certa forma, o cálcio afeta a difusão de compostos no tecido vegetal. Os mesmos autores também citam a influência do nutriente na germinação e crescimento do pólen, bem como na formação e desenvolvimento de nódulos de *Rhizobium*.

O ferro está presente em basicamente dois grupos de proteínas: hemoproteínas e ferro-sulfo proteínas. As primeiras são representadas pelos citocromos, citocromos oxidases, catalase, peroxidase e leghemoglobina. Os citocromos são constituintes do sistema de reações de redox nos cloroplastos e mitocôndrias e quando está na forma de citocromo oxidase, participa da fase terminal da cadeia respiratória da planta. Já as catalases facilitam a dissociação da água oxigenada em água e oxigênio durante a fotorespiração e a via glicolítica. As peroxidases são abundantes na rizoderme e endoderme das raízes e catalizam a polimerização de compostos fenólicos em lignina (MARSCHNER, 1993).

Fato comum em solos ácidos é a indisponibilidade do ferro devido à aplicação excessiva de calcário, causando clorose nas plantas (MENGEL & KIRKBY, 1975), assim como o excesso de fósforo pode causar a precipitação do ferro na planta (MARSCHNER, 1993).

O cobre no solo está quase que exclusivamente na forma divalente ( $\text{Cu}^{+2}$ ) e é facilmente complexada com compostos de baixo peso molecular. Nas raízes e no xilema mais de 99% do cobre é complexado em aminoácidos e outros compostos.

SANDMANN & BOGER (1983), citados por MARSCHNER (1993) mencionaram o cobre em três diferentes formas nas proteínas: proteínas azuis, proteínas não azuis e proteínas multicúpricas. As primeiras, segundo esses autores, não tem atividade da oxidase, como por exemplo a plastocianina. As proteínas não azuis produzem peroxidase e oxidam monofenóis para difenóis. As multicúpricas contêm no mínimo quatro átomos de cobre para cada molécula e atuam como oxidases e catalizam reações, são exemplos as oxidases ascorbate e lacases. Além das funções enzimáticas de catálise, MALAVOLTA (1980) e MARSCHNER (1993) destacam a influência do cobre na síntese de proteínas, metabolismo de carboidratos e na fixação simbiótica do nitrogênio. O último autor cita ainda a importância do cobre na lignificação e formação da parede celular, bem como a formação e fertilização do pólen.

O zinco é um componente de várias enzimas, inclusive as desidrogenases como a do álcool e ácido láctico. A interação mais conhecida é a deficiência de zinco induzida pelo excesso de fósforo ou fosfato (EPSTEIN, 1975). Também é responsável pela síntese do triptofano que é precursor do ácido indolacético, um hormônio de crescimento das plantas, embora esta função seja contestada por TAKAKI & KUSHIZAKI (1970) citados por EPSTEIN (1975).

O sódio é abundante nos solos e mais fracamente adsorvidos pelos colóides do que o potássio, magnésio e cálcio. Em solos salinos, onde existe o excesso de sódio, a qualidade e manejo das águas são importantes no processo de dessalinização, já que este elemento tem fácil dissolução. Entretanto, as plantas podem excluir o sódio no processo de absorção, enquanto outras são capazes de acumular no tecido vegetal. As funções são pouco conhecidas, mas sabe-se que é ativador de algumas enzimas (MARSCHNER, 1993).

## 2.8 PARÂMETROS LEGAIS

Nos Estados Unidos e países da Comunidade Européia já existem critérios estabelecidos que orientam o uso agrícola de resíduos orgânicos urbanos e industriais (ANJOS, 1999). No entanto muitos países não possuem uma legislação sobre solo limpo. Esta situação legal não uniforme coloca o pesquisador de novas tecnologias num lugar desconfortável sem uma clara idéia da definição do problema (SOUZA, 1999).

Em 1993, a legislação americana aumentou os limites de tolerância para teores de metais pesados presentes no bio-sólido e desconsiderou a avaliação da CTC do solo, que era exigida na legislação anterior. Nas regiões tropicais os solos se caracterizam por serem, na sua grande maioria, ácidos, de baixa CTC e baixo teor de matéria orgânica diferindo muito dos solos de regiões temperadas, o que faz com que seja perigosa a extrapolação das quantidades de metais (ANJOS, 1999).

A vegetação envolvida na fitorremediação, quando pastoreada por animais que fazem parte de uma cadeia alimentar, pode conter excesso de metais ou metabólicos do contaminante, constituindo-se num problema sanitário que é agravado pelo desconhecimento de uma regulamentação para utilização de plantas no processo de descontaminação do solo (McCUTCHEON, 1996).

No Brasil, não existe ainda uma regulamentação específica para o teor máximo de metais pesados no solo, mas projetos para tratamento de resíduos no solo necessitam de prévia autorização



do órgão ambiental local, mesmo com a instalação no interior de um pátio industrial, onde não serão produzidas plantas para consumo humano ou animal (SOUZA, 1999). Atualmente a Proposta de Alteração da Legislação para Fertilizantes Orgânicos referente à regulamentação do uso de resíduos orgânicos urbanos e industriais está em tramite no Ministério da Agricultura, processo DEA/SP - Nº 21052.008018/99-09.

A cooperação bilateral entre o Ministério Federal de Pesquisa e Tecnologia da Alemanha e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos vem trabalhando com o objetivo de desenvolver tecnologias de remediação de local contaminado com resíduos perigosos, bem como desenvolver procedimentos e critérios para priorização de remediação de áreas potencialmente contaminadas, utilizando-se de avaliação de risco caso a caso (CASARINI, 1996).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCALIZAÇÃO**

O presente trabalho foi realizado na Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, Petróleo Brasileiro S.A. - REPAR, em Casa de Vegetação, BR-476, Km 16,5 no Município de Araucária, região metropolitana de Curitiba, localizada geograficamente a 25° 35' 21" SS de latitude e 49° 25' 00" W Gr de longitude, Estado do Paraná - Brasil.

#### **3.2 AMOSTRAGEM DO SOLO**

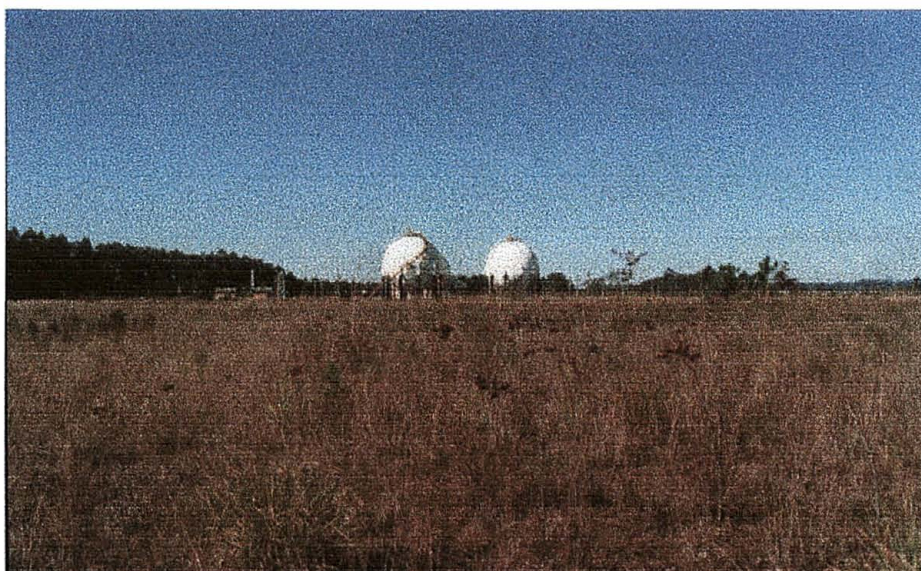
##### **3.2.1 Solo da área de biorremediação**

As amostras dos solos das áreas de biorremediação foram coletadas, nos anos de 1996, 1997 e 2000. Para efetuar as amostragens utilizou-se o trado tipo holandês para a coleta na profundidade de 20 cm da camada reativa do solo. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos de 2 litros e identificadas como AB-04 para a Área de Biorremediação e A4T para o solo testemunha, Figuras 3 e 4.

FIGURA 3: VISTA PARCIAL DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04



FIGURA 4: VISTA PARCIAL DA ÁREA TESTEMUNHA



### 3.3 PREPARO DO SOLO PARA TESTES EM BANDEJA

#### 3.3.1 Preparo do solo

Após a obtenção das amostras, o solo foi preparado secando-o ao ar e a seguir peneirado. Para obter-se terra fina seca ao ar, utilizou-se duas peneiras, uma de malha 3,56 mm e outra de malha 2mm, com o objetivo de obter uniformidade das partículas de solo, entre os tamanhos  $> 2\text{mm}$  e  $< 3,56\text{ mm}$ .

#### 3.3.2 Preparo da areia

A adição de areia ao solo, foi necessária devido ao fato do solo sem contaminação (testemunha) ser argiloso, sendo, portanto necessário acrescentar areia nos experimentos com o objetivo de dar boas condições de aeração e humidificação, melhorando as propriedades físicas do solo. A areia foi lavada com  $\text{HCl}(0,1\text{N})$  e água corrente para remover resíduos de matéria orgânica, desta forma não influenciando os resultados dos experimentos.

### 3.4 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

#### 3.4.1 Tratamentos

Os tratamentos constituem diferentes diluições com os solos das áreas de biorremediação contaminados com resíduos oleosos, solo testemunha sem contaminação e areia, conforme demonstrado na Tabela 2 e cada tratamento é composto de quatro repetições.



TABELA 2: DILUIÇÕES SOLO CONTAMINADO:SOLO TESTEMUNHA:AREIA

TRATAMENTOS	AREIA (g)	SOLO CONTAMINADO (g)	SOLO TESTEMUNHA (g)	CONCENTRAÇÃO TÓXICA (%)
A	250	250	0	100
B	250	190	60	75
C	250	125	125	50
D	250	60	190	25
E	250	0	250	0

### 3.4.2 Preparo das Bandejas

Os diferentes tratamentos foram preparados em bandejas plásticas com capacidade para 500 gramas de solo, medindo 17 centímetros de comprimento por 13 centímetros de largura por 5 centímetros de profundidade, (Figura 5) e com furos na parte interna para a drenagem de água evitando o excesso de umidade nos experimentos.

FIGURA 5: VISTA PARCIAL DO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO



### 3.4.3 Casa de Vegetação

Os ensaios foram realizados na casa de vegetação da Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, área total 35 metros quadrados revestida com sombrite e lona plástica transparente, Figura 6.

FIGURA 6: CASA DE VEGETAÇÃO



### 3.4.4 Semeadura

As sementes de *Avena strigosa* foram compradas no comércio, produtor FGK Sementes Comércio Importação Exportação LTDA, 92% percentual de germinação e 99% de pureza. Para o preparo das sementes utilizou-se o processo de embebição durante 24 horas antes da semeadura, acelerando a quebra de dormência, conforme metodologia de PAULINO, 1996.

Na semeadura foram estabelecidos quinze pontos por bandeja, cada ponto com uma semente, num total de noventa sementes por tratamento. Após a semeadura as bandejas foram protegidas em sacos plásticos evitando a perda de umidade por um período de sete dias.

### 3.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Foram analisadas as características físicas e químicas do solo da AB-04 e as características dos resíduos aplicados na área. A coleta das plântulas, determinações de biomassa da parte aérea e teor de metais pesados foram realizados em todos os tratamentos.

#### 3.5.1 Análises do solo

A granulometria foi determinada no laboratório de análises físicas do Departamento de Solos da UFPR com metodologia de acordo com EMBRAPA (1979), preparando a amostra do solo com água oxigenada durante 10 dias para eliminar o excesso de matéria orgânica.

As análises químicas dos solos foram realizadas no laboratório de análises químicas do Departamento de Solos da UFPR e a metodologia utilizada conforme PAVAN *et al.* (1992). Nesta, o pH é determinado em solução de  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/dm<sup>3</sup>; a solução extratora para o  $\text{Al}^{3+}$  é KCl 1 N; para  $\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$  utiliza-se tampão acetato de cálcio 1 N a pH 7; para  $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$  usa-se KCl 1 N e determinação por titulação inversa; para P e K utiliza-se extrator Mehlich I (THOMAS & PEASLEE, 1973). Para a determinação do teor de carbono foi usado o método de Walkley & Black (1934).

#### 3.5.2 Análise dos resíduos

As análises de composição e concentração de metais foram realizadas no Setor de Qualidade de Produtos (SEPROD), conforme normas analíticas da PETROBRAS, ME-6360-025 e ME-6360-026, onde os parâmetros avaliados foram água, óleos e graxas, asfaltenos, sedimentos e o teor de metais pesados.

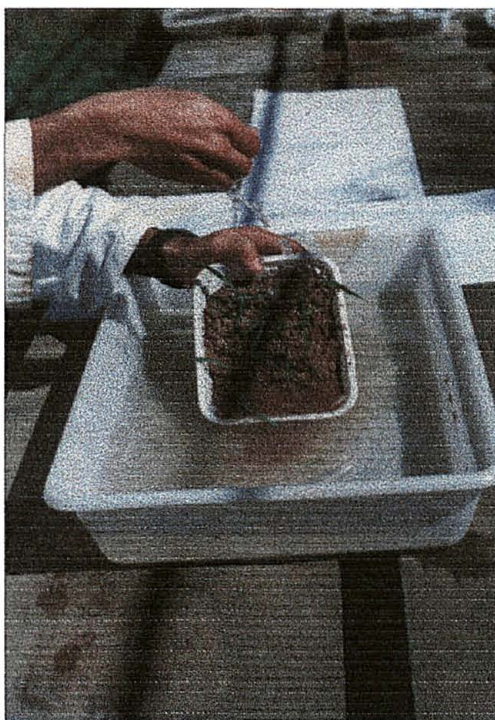
Para a identificação dos resíduos oleosos segue-se a nomenclatura usada dos tanques ou locais que as originaram: borras do tanque de equalização da UTDI - TQ 63201; tanque de recebimento diário de borras da UTDI - TQ 63209; tanque de equalização do separador de água e óleo (SAO) - TQ 63210; e dos depósitos de borras acumuladas - B 2 e B 3.



### 3.5.3 Coleta das Plântulas

Foram coletadas todas as plantas sobreviventes de cada tratamento e suas repetições. As bandejas com o material vegetal foram submersas em um recipiente com água, Figura 7, para retirada do excesso de solo das raízes, posteriormente foram esborrifadas com água deionizada assegurando toda a remoção do solo tanto das raízes como das folhas evitando o máximo de perda do material vegetal durante a limpeza. No local da coleta, foram separadas as raízes da parte aérea. As amostras foram etiquetadas e acondicionadas em sacos plásticos para análises posteriores.

FIGURA 7: COLETA DAS PLÂNTULAS



### 3.5.4 Determinação da biomassa vegetal

No laboratório o material coletado foi separado a parte aérea da parte radicular com o auxílio de uma tesoura em aço inox, em seguida foi acondicionado em pacotes feitos de papel-filtro e identificados para secagem em estufa a 65°C durante sete dias até a obtenção de peso constante.



Foram medidos os pesos das massas secas das raízes e folhas numa balança digital, com quatro casas decimais, obtendo-se as médias dos pesos de todos os tratamentos. O material foi novamente armazenado e reservados em dissecador para posterior análise de metais.

#### 3.5.5 Teor de metais pesados na parte aérea da plântula de aveia preta

A determinação dos teores de chumbo, zinco, cobre, níquel, cádmio, cromo, selênio, arsênio, manganês, cobalto, vanádio, alumínio, magnésio, sódio, potássio e ferro foram feitas pela digestão via seca a 500 °C e solubilizados com HCl a 10%, conforme a metodologia descrita por HILDEBRAND (1976). Os teores de metais foram determinados pela técnica de emissão atômica (ARL/FISONS modelo 3410 + ICP).

#### 3.6 ELABORAÇÃO DOS GRÁFICOS

Os gráficos foram elaborados no programa MICROSOFT EXCEL 2000, utilizando-se do cálculo para gráficos tipo dispersão.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

Os resultados, apresentados a seguir referentes ao ano 2000, foram obtidos com o solo dos diferentes tratamentos nas diferentes diluições entre solo contaminado/solo testemunha/areia. Com base nos resultados analíticos foi possível observar que a medida que aumenta a concentração do resíduo aumentou a disponibilidade do P, diminuiu o pH, aumentou o H+Al e o teor de carbono. O aumento dos teores de fósforo e do carbono pode ser explicado pelo conteúdo do material adicionado das borras aplicadas no solo da área de biorremediação. Convém notar que estas análises se referem ao solo durante a realização do experimento e após a retirada das plântulas. As características foram modificadas devido as aplicações dos resíduos e a correção do pH, após o término da aplicação dos mesmos, Tabela 3. A análise granulométrica não apresentou diferença nas diferentes diluições, Tabela 4.

Considerando as características da população microbiana no que tange os fatores como pH, Al trocável,  $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$  e  $\text{K}^{+}$ , se encontram dentro de um bom padrão de fertilidade para a biodegradação, inclusive para o fósforo. Em relação a fertilidade do solo para as plantas nota-se uma melhoria no substrato, principalmente em carbono e fósforo a medida que aumenta a concentração do resíduo. A caracterização do substrato nos experimentos no ano 1996 não foram realizados.

O solo de origem da AB-04 e 4T caracteriza-se como sendo uma área de empréstimo, predominantemente constituído de argila siltosa, a caracterização analítica esta descrita na Tabela 5.

TABELA 3: LAUDO DE ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04 COMO SUBSTRATO

TRATAMENTOS	pH	Al <sup>+3</sup>	H+Al	Ca <sup>+2</sup> +Mg <sup>+2</sup>	Ca <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	T	P	C	pH	V
	CaCl <sub>2</sub>			cmol./dm <sup>3</sup>				mg/dm <sup>3</sup>	g/dm <sup>3</sup>	SMP	%
AB-04 A1	5.40	0.00	4.00	7.00	4.10	0.12	11.12	20.00	10.60	6.30	64.03
AB-04 A2	5.10	0.00	4.30	8.90	5.00	0.12	13.32	19.00	12.00	6.20	67.72
AB-04 B1	5.40	0.00	2.70	11.40	7.80	0.16	14.26	23.00	8.19	6.80	81.07
AB-04 B2	5.90	0.00	2.50	11.00	7.50	0.16	13.66	21.00	8.60	6.90	81.70
AB-04 C1	6.10	0.00	2.00	13.50	9.00	0.21	15.71	19.00	6.60	7.20	87.27
AB-04 C2	6.30	0.00	1.90	13.80	9.60	0.22	15.92	20.00	6.60	7.30	88.07
AB-04 D1	6.50	0.00	1.60	14.40	10.50	0.27	16.27	13.00	4.10	7.50	90.17
AB-04 D2	6.80	0.00	1.60	14.20	10.50	0.25	16.05	12.00	4.10	7.50	90.03
AB-04 E1	6.90	0.00	1.40	13.60	10.00	0.25	15.25	4.00	0.70	7.60	90.82
AB-04 E2	6.90	0.00	1.40	12.20	9.10	0.25	13.85	3.00	1.20	7.60	89.89

TABELA 4: LAUDO DE ANÁLISE GRANULOMÉTRICA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04 COMO SUBSTRATO

TRATAMENTO	ARGILA FINA	ARGILA GROSSA	AREIA	SILTE	ARGILA
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
AB-04 A1	10	66	76	14	10
AB-04 A2	8	56	64	22	14
AB-04 B1	6	62	68	20	12
AB-04 B2	12	56	68	20	12
AB-04 C1	6	60	66	24	10
AB-04 C2	4	62	66	26	8
AB-04 D1	6	56	62	32	6
AB-04 D2	4	62	66	22	12
AB-04 E1	16	68	84	2	14

TABELA 5: ANÁLISE DO SOLO DE ORIGEM DA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO E DA ÁREA TESTEMUNHA.

ANÁLISES	PESO (%)	pH em CaCl <sub>2</sub> 0,01M	TEORES TROCÁVEIS (e.mg/100cm <sup>3</sup> )	TEOR SOLÚVEL (ppm)
Areia	35,6	-	-	-
Limo	28,0	-	-	-
Argila	36,4	-	-	-
pH	-	5,2	-	-
Alumínio	-	-	0,4	-
Ca + Mg	-	-	21,3	-
Cálcio	-	-	16,4	-
Magnésio	-	-	4,9	-
H + Al	-	-	2,7	-
Potássio	-	-	0,19	-
Fósforo	-	-	-	14

FONTE: GONÇALVES, 1996.

#### 4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS APLICADOS

Os resíduos são compostos em geral por água, óleos e graxas, asfaltenos, sedimentos e metais. A composição dos resíduos oleosos aplicados na área de biorremediação é mostrada na Tabela 6. Cabe salientar que as borras oleosas utilizadas podem ser consideradas de baixos teores de metais pesados.

TABELA 6: COMPOSIÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE METAIS DAS BORRAS OLEOSAS

ORIGEM DO RESÍDUO	COMPOSIÇÃO (%)				CONCENTRAÇÃO DE METAIS (mg/l)								
	Água	Óleos e graxas	Asfaltenos	Sedimentos	Pb	Zn	Cu	As	Cr	Fe	Ni	Cd	Hg
TQ-63209	89,40	1,10	0,24	9,26	11,90	131,50	11,60	8,40	31,60	2291,0	20,50	ND	0,80
TQ-63201	81,80	12,45	0,58	5,17	109,00	246,00	43,00	219,00	484,00	4814,0	174,00	8,00	16,00
TQ-63210	11,21	25,05	ND	ND	9,00	48,00	29,00	12,00	58,00	2976,0	13,00	1,00	1,00
B-2	66,70	9,10	0,40	23,80	59,00	644,80	157,90	161,60	429,50	ND	73,10	3,60	4,70
B-3	73,20	6,00	0,40	23,80	40,70	313,30	37,00	75,00	667,00	5862,1	44,30	0,80	2,50

ND = Não Determinado

#### 4.3 TAXA DE APLICAÇÃO DOS RESÍDUOS

O critério utilizado para a aplicação das borras oleosas na Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR no solo foi a quantidade de metal acumulada no solo, conforme a recomendação do EPA-USDA para solos de uso agrícola pela norma EPA 800/81, (Tabela 7) que estabelece parâmetros de acumulação de metais pesados no solo. O acompanhamento de metais aplicados na AB-04 foi controlado em relação a saturação dos metais no solo, desta forma, na área experimental a adição de resíduos foi completada levando em conta a saturação de zinco e níquel, Tabela 8.

TABELA 7: ACÚMULO MÁXIMO DE METAIS NO SOLO PARA USO AGRÍCOLA - NORMA EPA 800/81.

METAL (kg/ha)	CAPACIDADE DE TROCA CATIONICA (CTC)		
	< 5	5 a 15	> 15
Chumbo	500	1000	2000
Zinco	250	500	1000
Cobre	125	250	500
Níquel	50	100	200
Cádmio	5	10	20

TABELA 8: ACOMPANHAMENTO DE METAIS APLICADOS NA ÁREA 4 CONFORME - NORMA EPA 800/81

ÁREA/METAL	LIMITE MÁXIMO/ÁREA (kg/ha)	QUANTIDADE APLICADA (kg/ha)	SATURAÇÃO (%)
Pb	2004,10	355,43	17,73
Zn	1002,07	1001,52	99,94
Cu	501,03	305,42	60,95
Ni	200,41	196,11	97,85
Cd	20,04	9,88	49,30

Esta norma utiliza os metais chumbo, zinco, cobre, níquel e cádmio como parâmetro de controle, levando em consideração a capacidade de troca cationica (CTC) do solo. Considera-se critério de uso agrícola quando o total de metais adicionados é inferior aos limites de saturação. Na área AB-04 foram aplicados 3405,7 toneladas por hectare dos resíduos dos tanques TQ-63209, TQ-63201, TQ-63210, TQ-4242, B-2, B-3 e dos tambores, numa área total de 4,2 ha como é mostrado na Tabela 9.

TABELA 9: QUANTIDADE TOTAL DE RESÍDUOS APLICADOS NA ÁREA 4

RESÍDUO	TOTAL APLICADO (m <sup>3</sup> /ha)
TQ-63209	81,9
TQ-63201	991,7
TQ-63210	249,7
TQ-4242	17,0
Tambores	10,4
B-2	737,8
B-3	1416,0

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA FITOXICIDADE

Esta seção aborda a avaliação da absorção dos metais presentes no solo utilizando-se da metodologia para bioindicadores vegetais de biorremediação através de fitotoxicidade. Nesta metodologia avalia-se a produção de biomassa vegetal, através do crescimento do vegetal das plântulas sobreviventes, em diferentes concentrações de contaminação e determina a fitotoxicidade.

A produção de biomassa vegetal e a sobrevivência das plântulas coletadas de aveia preta, nas diferentes concentrações tóxicas nos experimentos realizados com a área de biorremediação e testemunha estão descritos nas Tabela 10 e 11.

A sobrevivência das plântulas em 1996 ocorreu de maneira crescente a medida que diminuía a contaminação no solo, este fato, pode ser explicado devido ao efeito tóxico do resíduo nas diferentes concentrações de solo contaminado/solo testemunha no vegetal. Nos resultados obtidos em 2000 o número médio de plantas sobreviventes é mais equilibrado sendo possível concluir que a aveia preta estava sujeita a menores concentrações tóxicas do resíduo no solo contaminado, indicando biorremediação.

Considerando as plântulas sobreviventes, a variação da biomassa vegetal produzida foi obtida em relação às diferentes concentrações tóxicas, evidenciando uma redução no crescimento relativo a medida que aumenta a concentração do resíduo no solo. O crescimento relativo expressa em biomassa vegetal produzida, nos tratamentos em ordem crescente de concentração tóxica, uma variação entre 100% a 46,39% e 100% a 83,07% no ano 1996 e no ano 2000, respectivamente (Figura 8), indicando menor fitotoxicidade em 2000, decorrente da biodegradação dos resíduos adicionados ao solo.

TABELA 10: SOBREVIVÊNCIA DAS PLÂNTULAS E BIOMASSA DA PARTE AÉREA DA AVEIA PRETA EM 1996

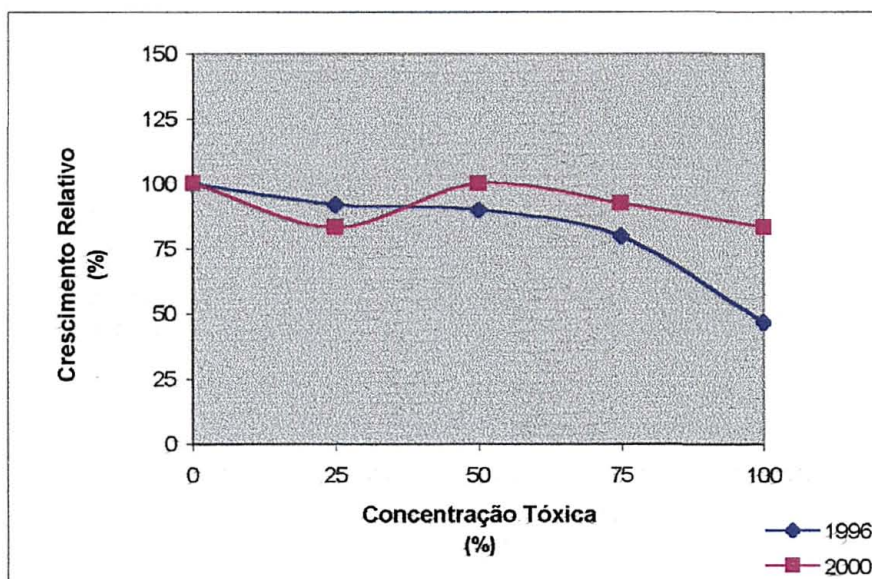
TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÃO TÓXICA (%)	NÚMERO MÉDIO PLÂNTULAS SOBREVIVENTES	PESO SECO TOTAL (g)	PESO SECO MÉDIO (g)	PESO SECO UNITÁRIO (g)
A	100	2,5	0,0453	0,0113	0,0045
B	75	3,5	0,1084	0,0271	0,0077
C	50	4,25	0,1493	0,0373	0,0087
D	25	4,0	0,1696	0,0424	0,0089
E	0	10,5	0,4077	0,1019	0,0097

TABELA 11: SOBREVIVÊNCIA DAS PLÂNTULAS E BIOMASSA DA PARTE AÉREA DA AVEIA PRETA EM 2000

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÃO TÓXICA (%)	NÚMERO MÉDIO PLÂNTULAS SOBREVIVENTES	PESO SECO TOTAL (g)	PESO SECO MÉDIO (g)	PESO SECO UNITÁRIO (g)
A	100	9,1	0,3458	0,0494	0,0054
B	75	9,0	0,3246	0,0541	0,0060
C	50	11,6	0,5340	0,0762	0,0065
D	25	9,3	0,4048	0,0506	0,0054
E	0	11,3	0,5201	0,0743	0,0065



FIGURA 8: CRESCIMENTO RELATIVO DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS DA AVEIA PRETA



#### 4.5. ABSORÇÃO DE METAIS NOS TESTES DE FITOTOXICIDADE

A absorção de metais em 1996 em geral foi inferior a observada no ano 2000, para praticamente todos os metais analisados. Valores coerentes com o estado de biorremediação da área. Na prática a medida que ocorre a biodegradação dos resíduos adicionados, ocorre também a liberação dos metais para o solo, aumentando a disponibilidade destes e a conseqüente absorção pelas plântulas. Estes fenômenos também foram observados em trabalhos realizados por ANJOS *et al.* 1989; DONKER *et al.* 1994; SCHOONER *et al.* 1995).

De um modo geral, pode-se afirmar que à medida que ocorre a biorremediação, ocorre o aumento da toxicidade do solo devido ao acúmulo de metais, esta afirmação é coerente com dados encontrados em literatura, e também como critério de aplicação de resíduo no solo, como na norma EPA 800/81, 40 CFR 503 e também na Lei brasileira para aplicação de bio sólidos no solo, que se encontra em fase final de elaboração. Estas normas também consideram o efeito de saturação de metais. Os resultados obtidos para os diferentes metais considerados são apresentados a seguir.

#### 4.5.1 Avaliação dos teores de chumbo, zinco, cobre, níquel e cádmio

Os metais Pb, Zi, Cu, Ni e Cd são controlados pela norma EPA 800/81. O resultado do comportamento da absorção de cada um destes metais é apresentado a seguir.

Para o chumbo no ano de 1996, não houve absorção do elemento nas plântulas, este fato pode ter ocorrido devido ao processo de mistura solo contaminado/solo testemunha, podendo o metal ter ficado indisponível em contato com 4T (Figura 9). No entanto, no ano 2000 a absorção de chumbo a partir de 25% de concentração tóxica pode ter ocorrido devido a ação do solo contaminado, o qual está disponibilizando a absorção do elemento nas demais concentrações (Figura 10).

FIGURA 9: TEOR DE CHUMBO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

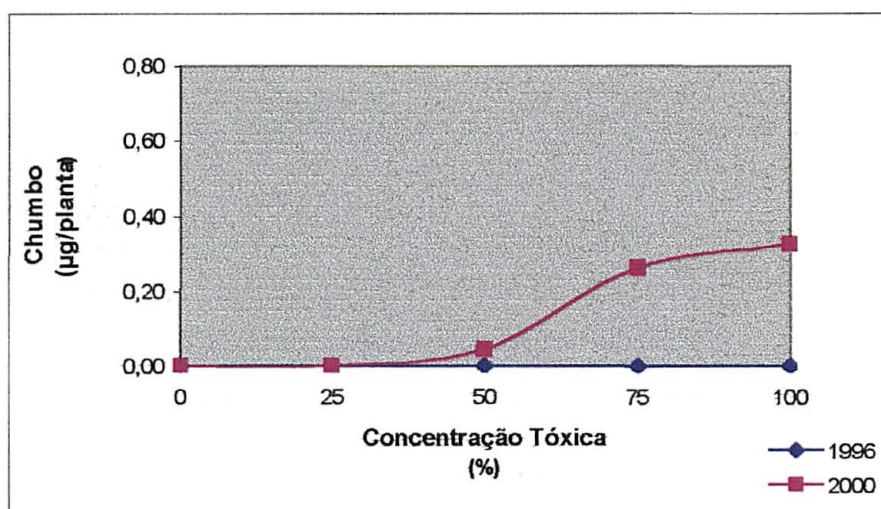
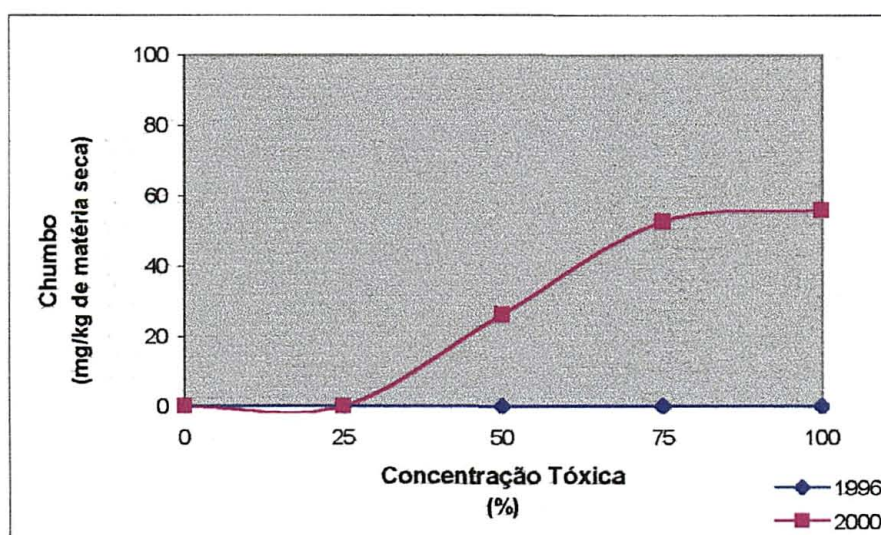


FIGURA 10: TEOR DE CHUMBO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS





O zinco foi o elemento mais absorvido, neste grupo de metais, nas plântulas de aveia preta. A medida em que aumenta a concentração tóxica do resíduo no solo experimental, nos anos de 1996 e 2000 aumenta a absorção (Figuras 11 e 12), tendendo a um aumento nas concentrações tóxicas entre 75 % e 100% na absorção do metal.

FIGURA 11: TEOR DE ZINCO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

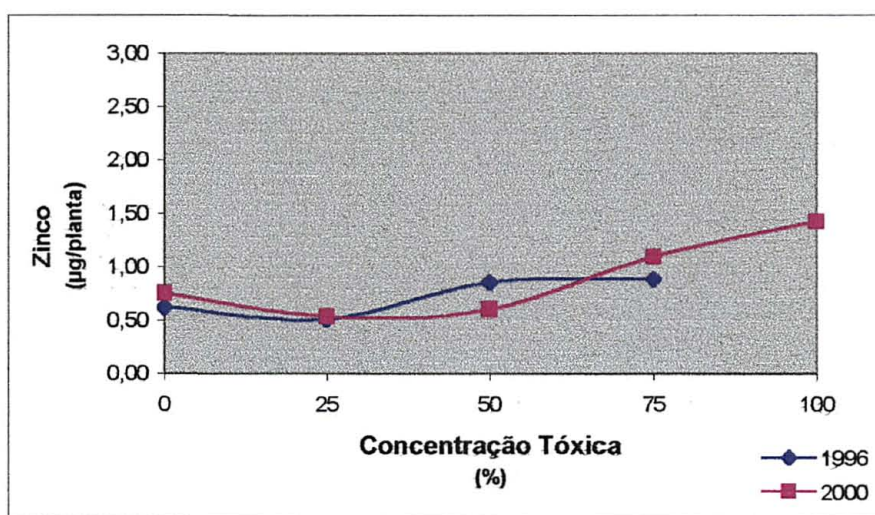
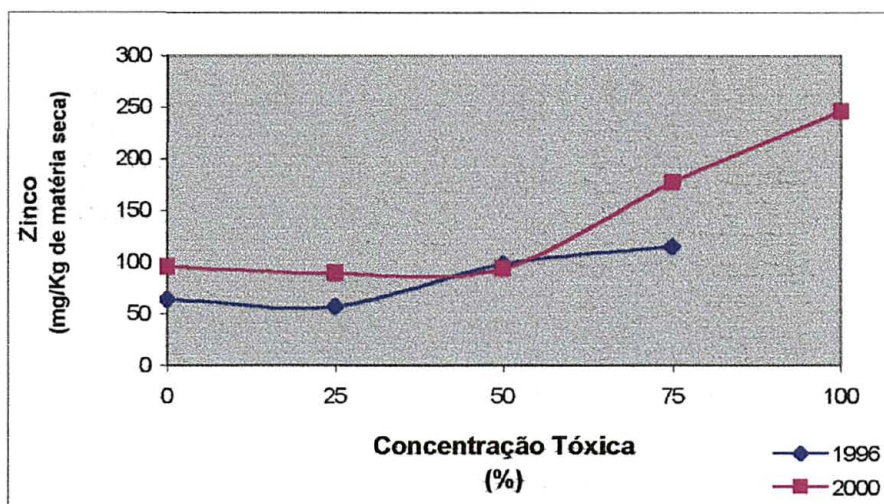


FIGURA 12: TEOR DE ZINCO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o cobre observa-se um decréscimo na absorção do elemento à medida que aumenta a concentração do resíduo em 1996, no entanto, a absorção de cobre nas concentrações tóxicas entre 0% e 25% pode ter ocorrido devido a ação do solo testemunha nas plantas ou inibição da absorção pelo efeito tóxico do solo da área contaminada nas demais concentrações. No ano 2000 o decréscimo não é tão acentuado a partir de 50% de concentração tóxica o que pode ser explicado pelo maior crescimento das plantas devido a diminuição da toxicidade do solo contaminado, Figuras 13 e 14.

FIGURA 13: TEOR DE COBRE NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

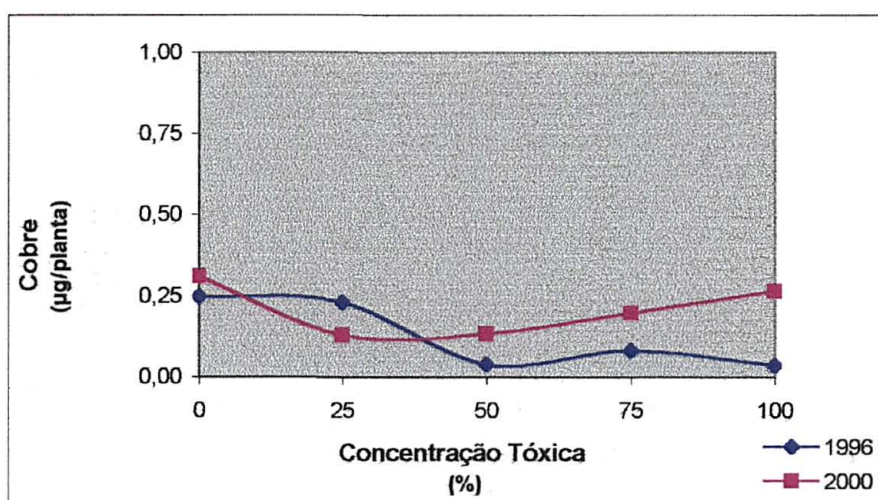
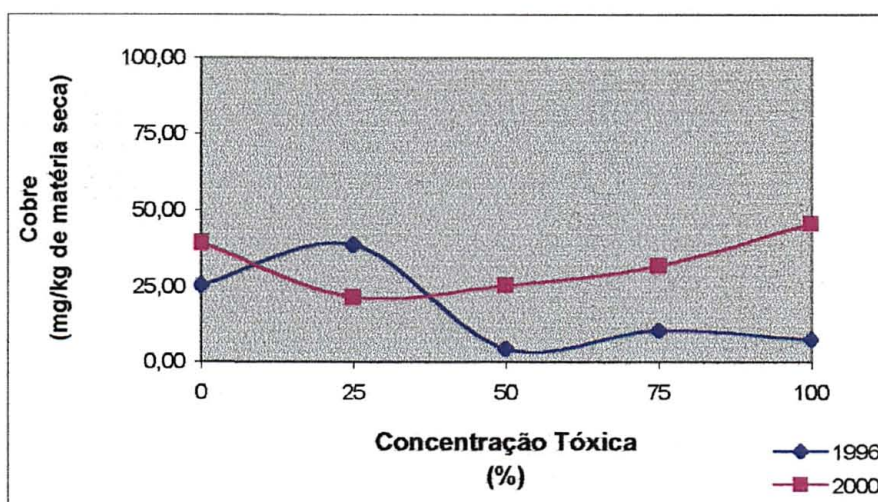


FIGURA 14: TEOR DE COBRE NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS





A absorção de níquel não apresenta uma diferença entre as curvas nos anos de 1996 e 2000, Figuras 15 e 16. A medida em que aumenta a concentração tóxica do solo contaminado as curvas tendem a aumentar, principalmente no ano 2000, comportamento melhor representado na Figura 16.

FIGURA 15: TEOR DE NÍQUEL NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

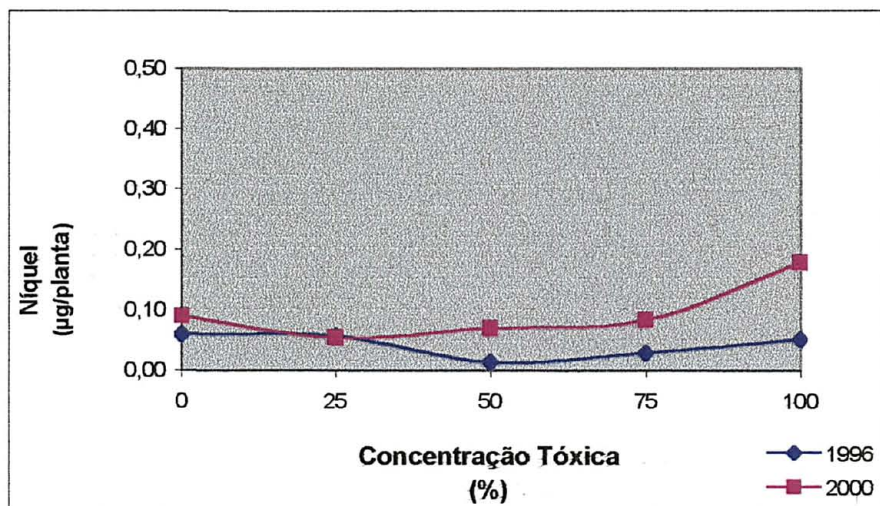
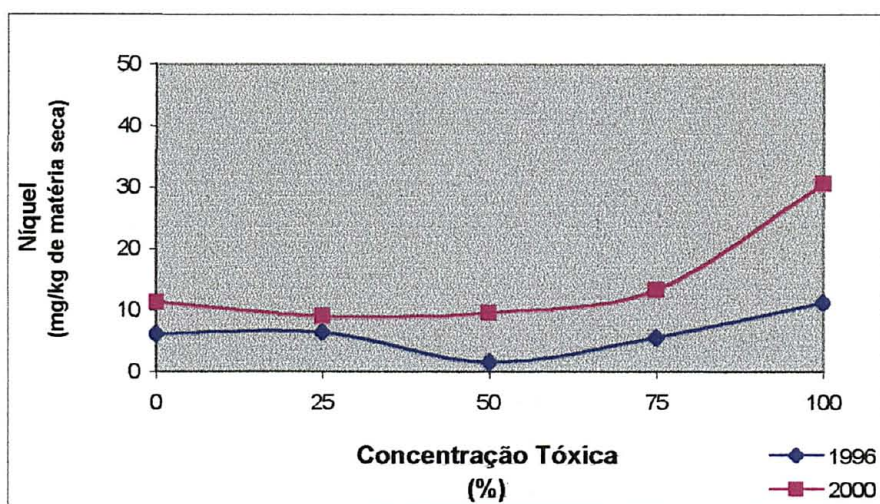


FIGURA 16: TEOR DE NÍQUEL NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o cádmio observa-se um comportamento semelhante ao do níquel no que se refere há não apresentar uma diferença entre as curvas nos anos de 1996 e 2000, Figuras 17 e 18. Entretanto, ocorre um decréscimo a medida em que aumenta a concentração tóxica do solo provavelmente devido ao efeito tóxico do óleo às plântulas de aveia.

FIGURA 17: TEOR DE CÁDMIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

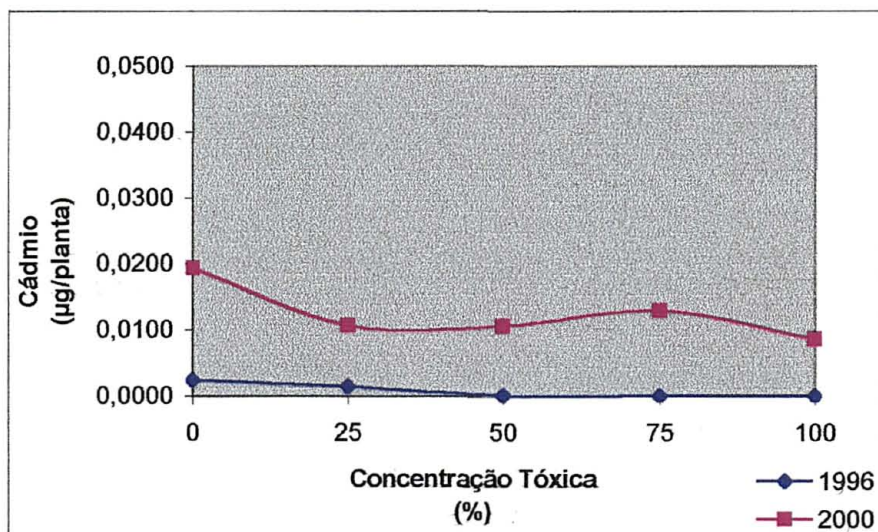
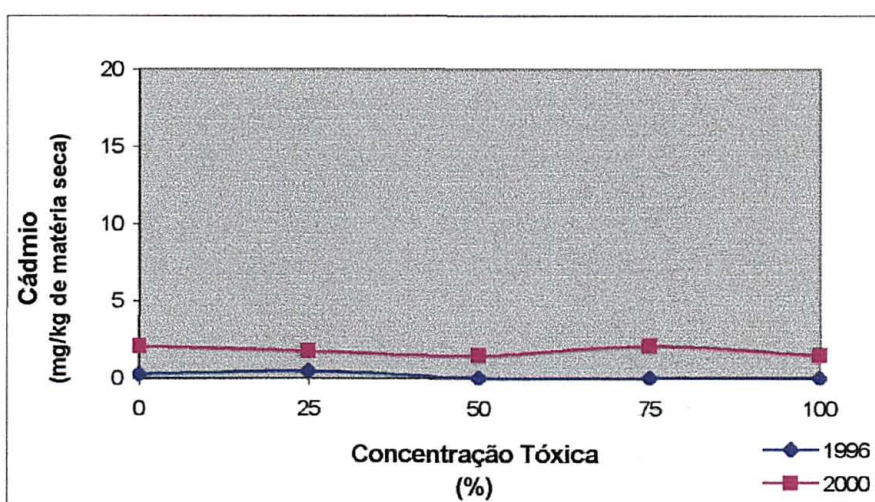


FIGURA 18: TEOR DE CÁDMIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Convém notar que para os metais controlados pela norma EPA 800/81, ocorreram aumentos na absorção dos metais independentemente do grau de saturação dos metais, inclusive podemos citar como exemplo o chumbo, que foi bastante evidente na parte aérea, apesar de apresentar somente 17,73% de saturação.

No caso específico do zinco praticamente não houve diferença entre 1996 e 2000, até certo ponto indicando que o valor de 99,94% para a saturação com zinco pela norma EPA 800/81 é baixo. Confirmando, dados discutidos na literatura e que sugerem a revisão da norma (WALLACE & WALLACE, 1994; McBRIDE, 1995), culminaram com a 40 CFR 503, aumentando o limite máximo de aplicação de 1000 para 2779 kg/ha, e a lei brasileira de 1000 para 2800 kg/ha, e que apresentariam saturação de 36,03% e 35,76% respectivamente, confirmando que a norma EPA 800/81 é bastante restritiva. Wallace & Wallace (1994) e McBride (1995) criticaram os níveis recomendados afirmando que a adsorção de metais nos solos não é um fato permanente e estes podem vir a ser liberados em longo prazo.

#### 4. 5.2 Avaliação dos teores de cromo, selênio, arsênio, vanádio e cobalto

Para o cromo observa-se um decréscimo na absorção do elemento à medida que aumenta a concentração do resíduo em 1996, podendo ter ocorrido inibição da absorção devido ao solo testemunha ou pelo efeito tóxico do solo contaminado. No ano 2000 ocorreu um aumento na absorção devido a mineralização da matéria orgânica, liberando o elemento ocorrendo a absorção a partir de 40% de concentração tóxica tendendo a um decréscimo nas maiores concentrações de solo contaminado, Figuras 19 e 20.



FIGURA 19: TEOR DE CROMO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

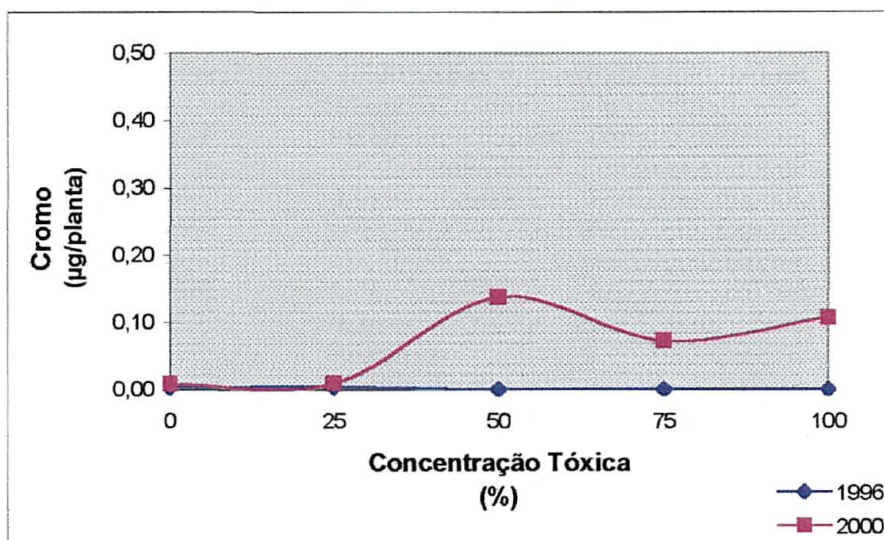
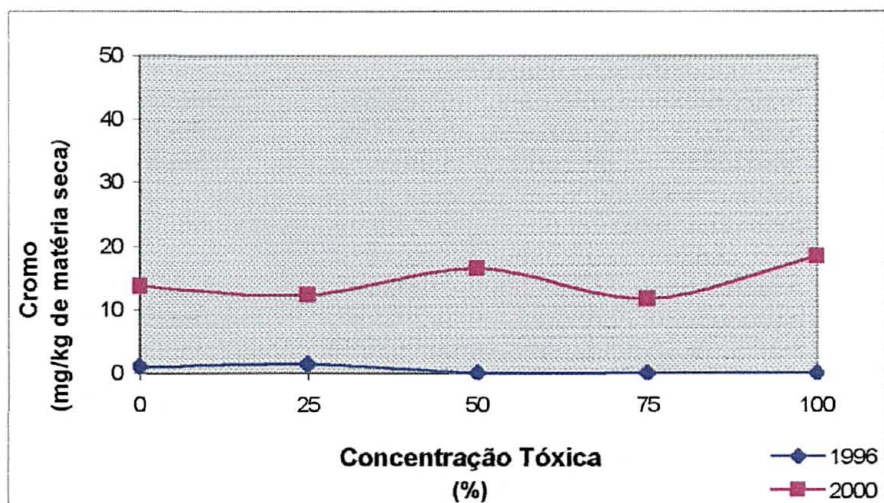


FIGURA 20: TEOR DE CROMO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Observando-se os dois primeiros pontos em 1996, a absorção do selênio pode ter ocorrido devido à ação do solo testemunha ou pelo menor crescimento da massa total das plantas devido à influência do óleo para a absorção do elemento. No ano 2000, a absorção de selênio apresenta uma curva gradativa mostrando que este elemento pode ser um bom indicador de biorremediação (Figuras 21 e 22).



FIGURA 21: TEOR DE SELÊNIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

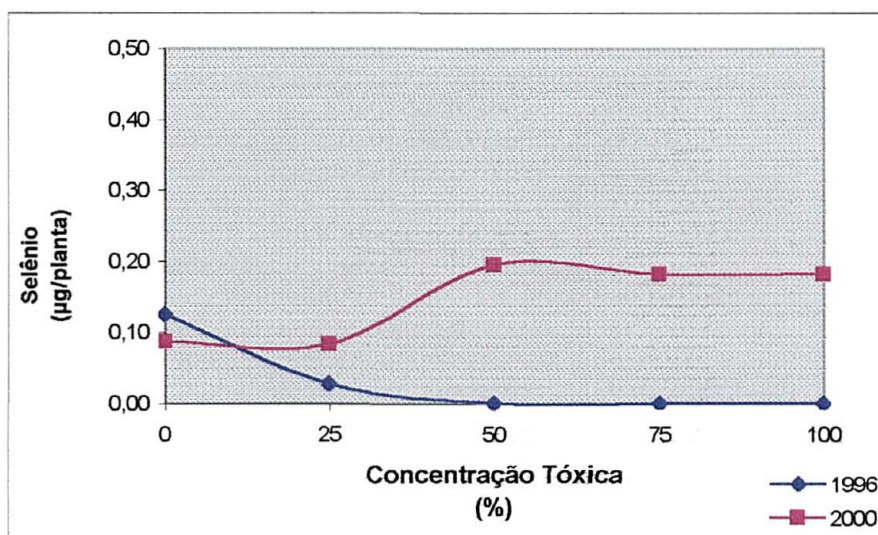
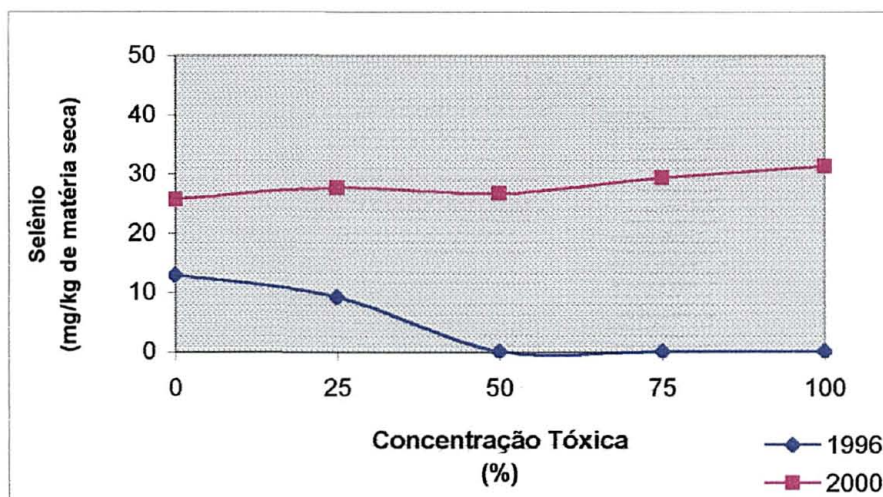


FIGURA 22: TEOR DE SELÊNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o arsênio no ano de 1996, não houve absorção do elemento nas plântulas, este fato pode ter ocorrido devido ao processo de mistura solo contaminado/solo testemunha, indisponibilizando o metal quando em contato com 4T (Figura 23). No entanto, no ano 2000 a absorção de arsênio a partir de 50% de concentração tóxica pode ter ocorrido devido a ação do solo contaminado disponibilizando a absorção do elemento nas demais concentrações (Figura 24).

FIGURA 23: TEOR DE ARSÊNIO DA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

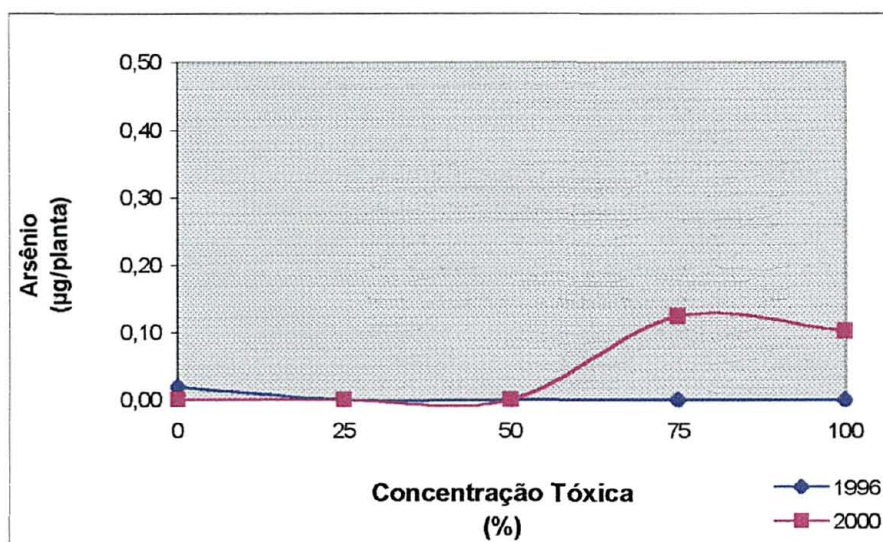
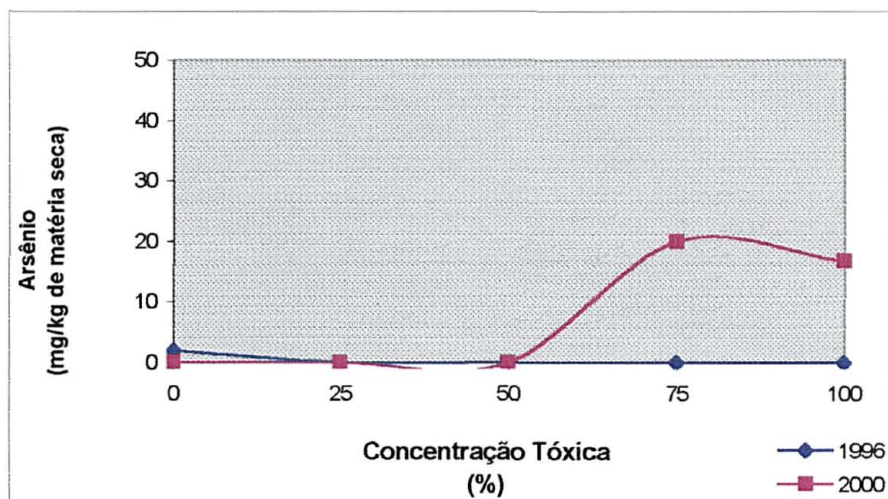


FIGURA 24: TEOR DE ARSÊNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



A absorção de vanádio no ano de 1996 apresenta apenas um ponto nas Figuras 25 e 26, que pode ser explicado pela ação do solo testemunha ou pelo menor crescimento da massa total das plantas devido a influência do óleo para a absorção do elemento. No ano 2000, a absorção de vanádio ocorre em todas as concentrações tóxicas devido a tolerância das plântulas ao elemento tóxico.



FIGURA 25: TEOR DE VANÁDIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

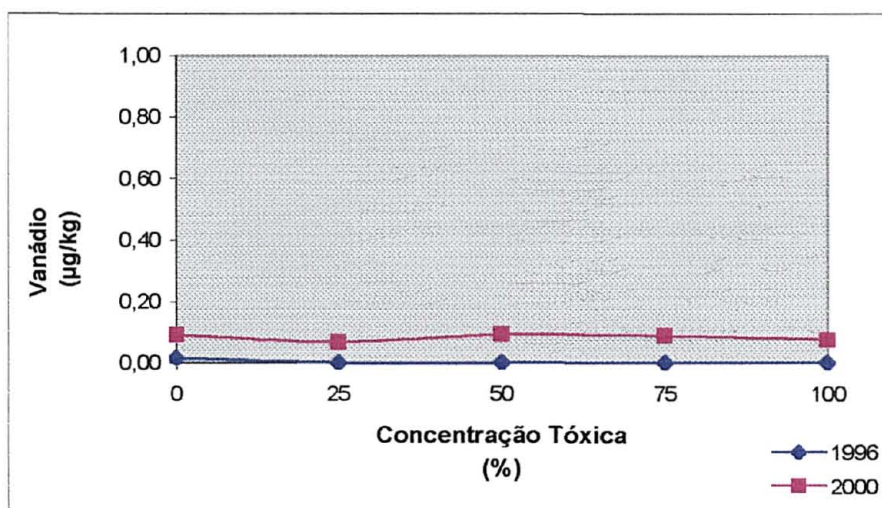
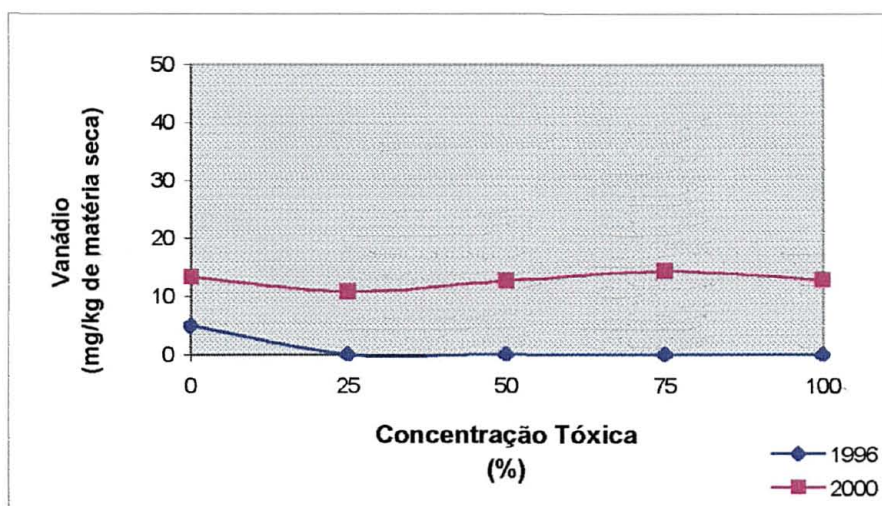


FIGURA 26: TEOR DE VANÁDIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o cobalto, as curvas dos gráficos não apresentam diferença entre os anos de 1996 e 2000 (Figuras 27 e 28). Em estudo com aplicação de grandes quantidades de biossólidos de diferentes origens, em solo argiloso, WILLIAMS *et al.* (1987), constataram que o cobalto é um elemento que não apresenta movimento significativo no solo. Este fato pode explicar o comportamento deste elemento e a baixa absorção em 2000.

FIGURA 27: TEOR DE COBALTO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

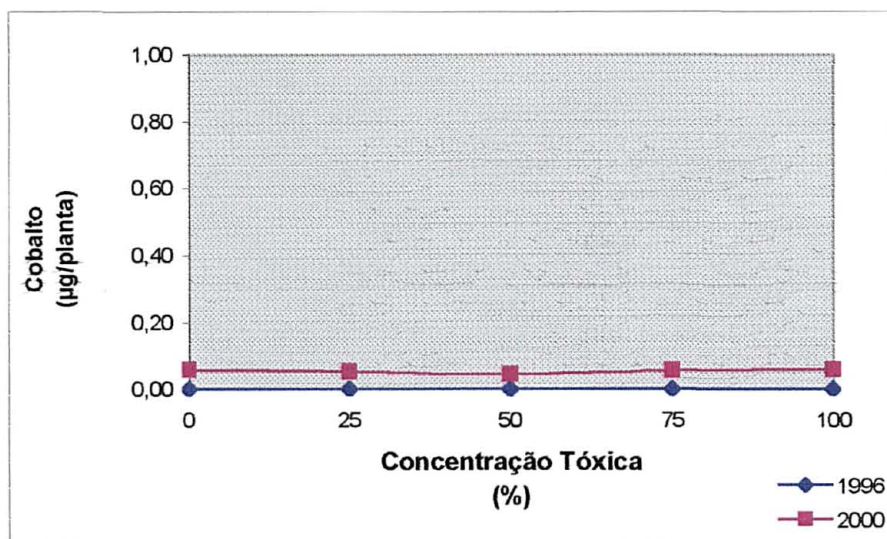
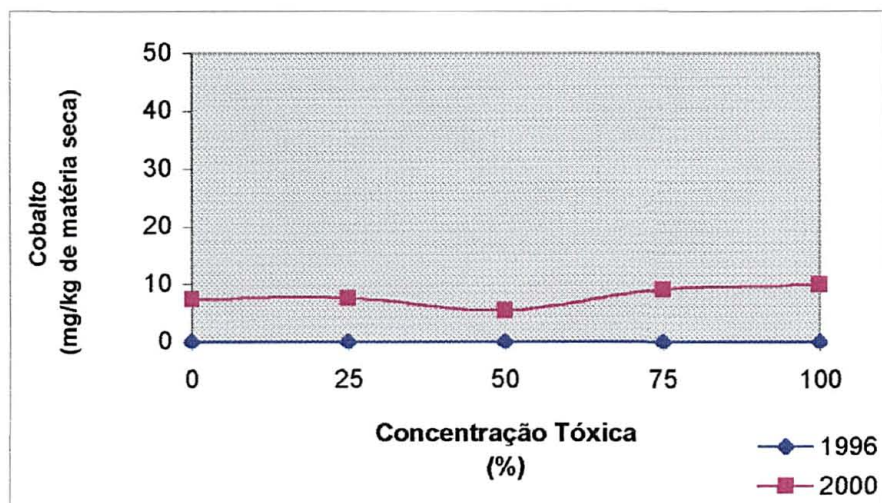


FIGURA 28: TEOR DE COBALTO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



#### 4.5.3 Avaliação dos metais de importância agrônômica, teores de alumínio, ferro, potássio, sódio, magnésio e manganês

Os metais Al, Fe, K, Na, Mg, e Mn de importância para a fertilidade do solo, são controlados pela Refinaria Presidente Getúlio Vargas, como complemento para o monitoramento de áreas de biorremediação. Convém ressaltar, que os resultados apresentados neste trabalho refletem a última correção do pH inicial, que foi realizada em 1996, que resultou na neutralização do Al trocável conforme pode ser observado na Tabela 5, e o comportamento do alumínio difere dos demais elementos no que se refere a absorção deste em maiores concentrações no ano de 1996, com aumento da absorção proporcional às concentrações tóxicas, provavelmente devido a mudanças decorrentes do uso de calcáreo e a neutralização lenta que ocorreu após a aplicação. No ano 2000, foi observado um decréscimo tanto na absorção do elemento em relação ao ano de 1996, quanto em relação as concentrações tóxicas, este fato pode ser explicado pelo efeito do calcáreo, que levou a neutralização do Al trocável aumentando-se o pH do solo e diminuindo a absorção do alumínio, (Figuras 29 e 30), conforme tem sido observado na literatura em geral (MALAVOLTA, 1980).

FIGURA 29: TEOR DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

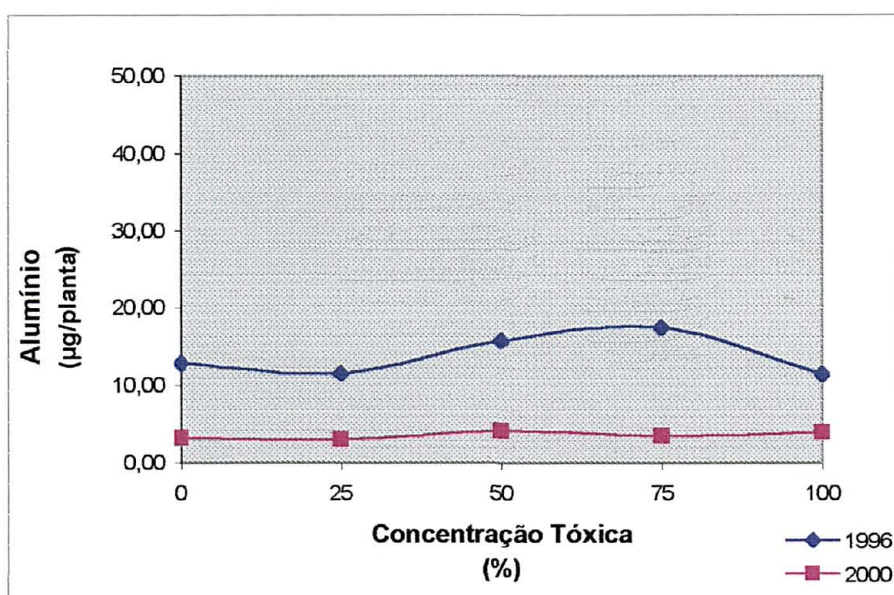
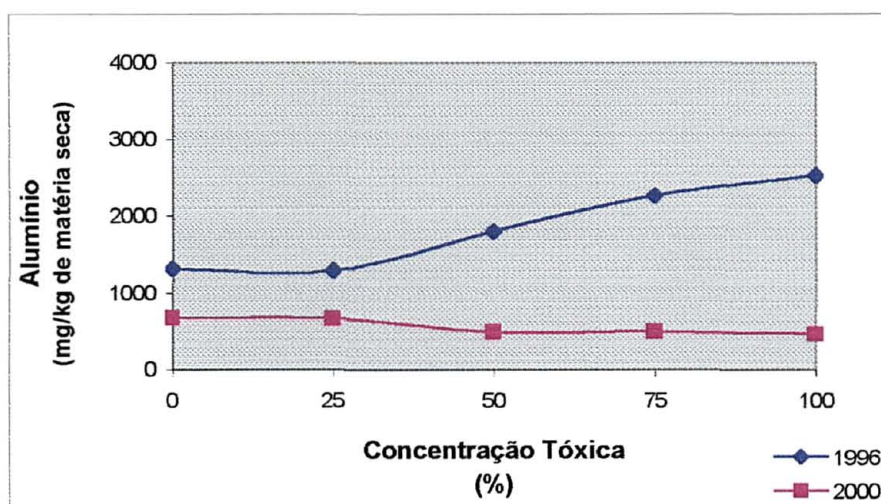




FIGURA 30: TEOR DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o ferro observa-se um decréscimo na absorção do elemento à medida que aumenta a concentração do resíduo em 1996, no entanto, a absorção de ferro nas concentrações tóxicas entre 0% e 25% pode ter ocorrido devido a ação do solo testemunha nas plantas ou pela inibição da absorção devido ao efeito tóxico do solo da área contaminada nas demais concentrações. No ano 2000, o decréscimo não é tão acentuado a partir de 50% de concentração tóxica, este fato pode ser explicado pelo maior crescimento das plantas devido a diminuição da toxicidade do solo contaminado, (Figuras 31 e 32).

FIGURA 31: TEOR DE FERRO NA PARTE ÁREA POR PLÂNTULA

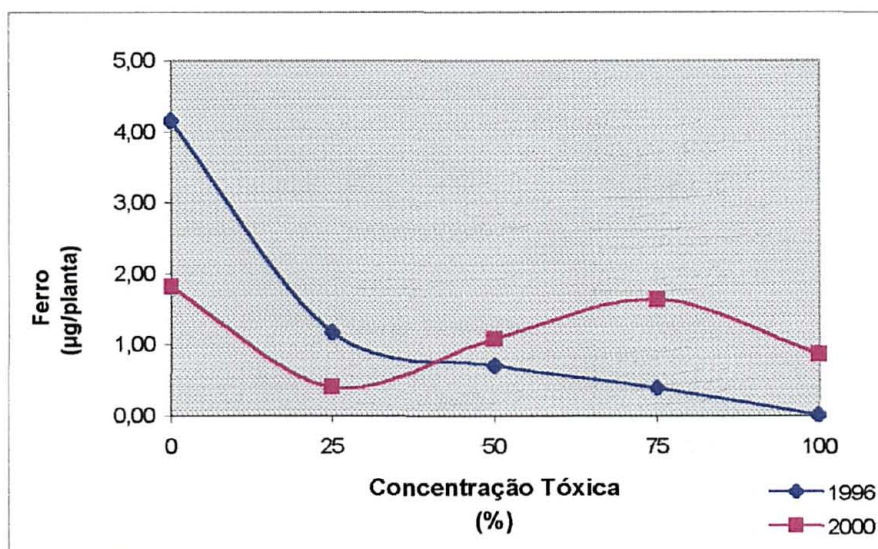
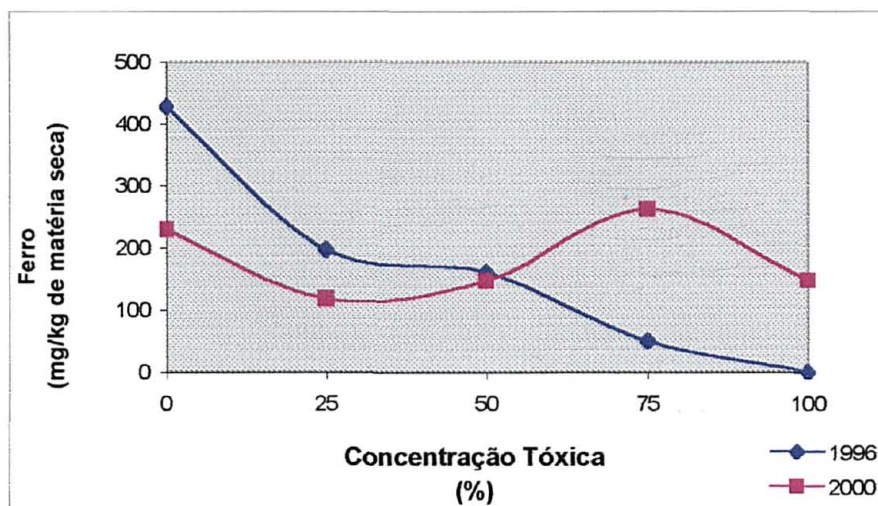


FIGURA 32: TEOR DE FERRO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o potássio, não observou-se diferença nos anos de 1996 e 2000, Figuras 33 e 34. No entanto, nas concentrações tóxicas de 0% e 25%, a absorção do elemento pelas plântulas pode ter ocorrido devido a diminuição da toxicidade em 2000.

FIGURA 33: TEOR DE POTÁSSIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

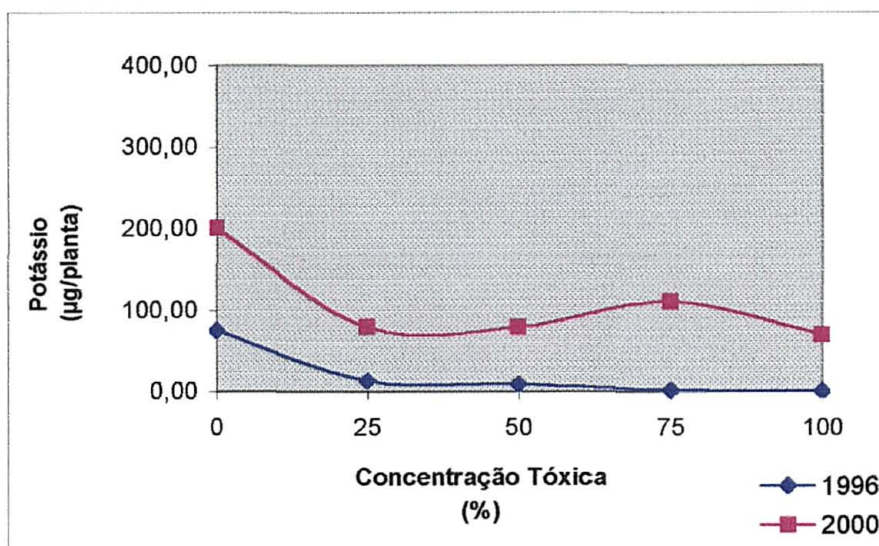
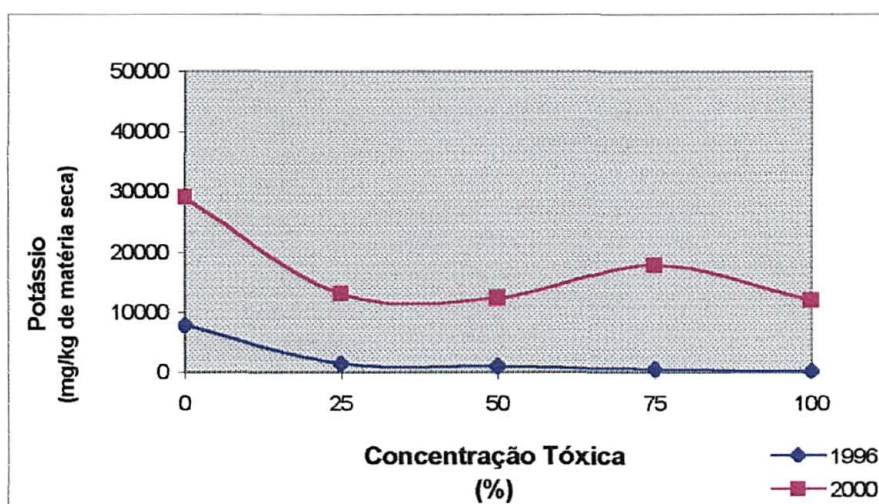


FIGURA 34: TEOR DE POTÁSSIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS





O sódio e o magnésio apresentam curvas semelhantes nos anos de 1996 e 2000, Figuras 35, 36, 37 e 38.

FIGURA 35: TEOR DE SÓDIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

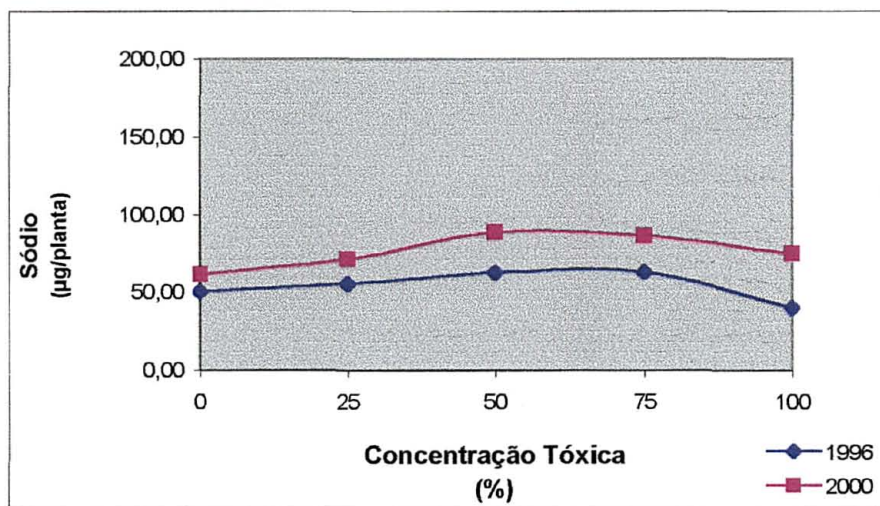


FIGURA 36: TEOR DE SÓDIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS

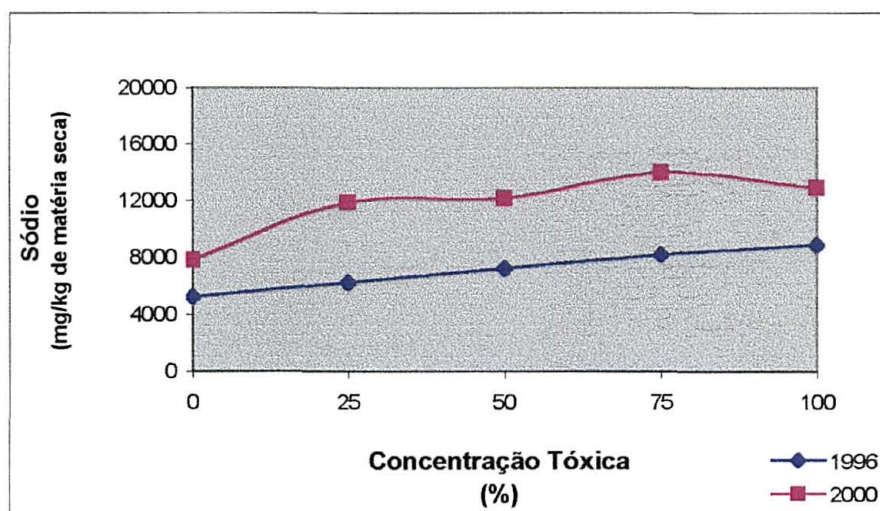


FIGURA 37: TEOR DE MAGNÉSIO NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

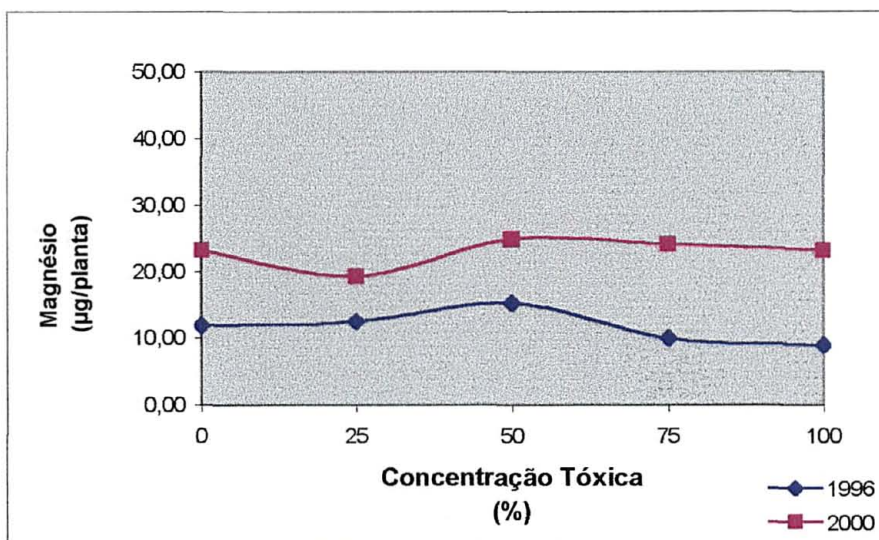
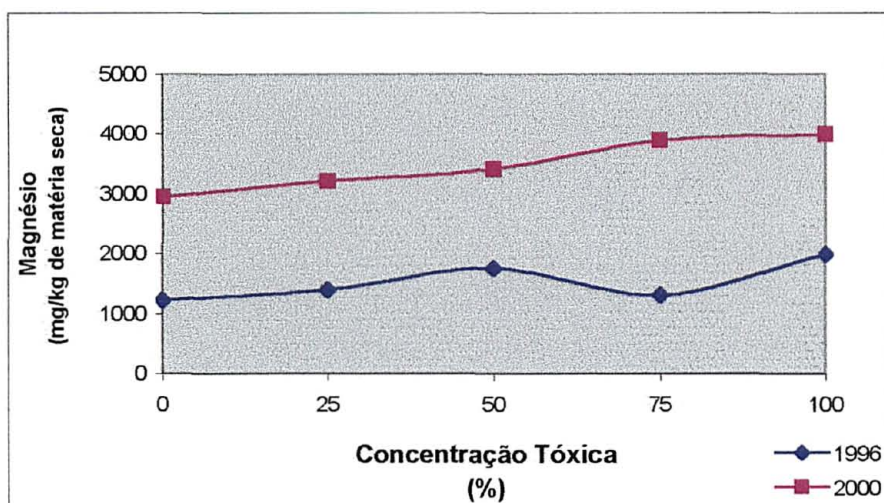


FIGURA 38: TEOR DE MAGNÉSIO NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



Para o manganês que no ano de 1996, observou-se baixos teores na absorção do elemento pelas plântulas, porém a absorção aumentou na mesma proporção das contaminações tóxicas da mistura solo contaminado/solo testemunha, (Figura 39). Entretanto, no ano 2000 a absorção de

manganês a partir de 25% de concentração tóxica aumenta consideravelmente, este comportamento pode ser explicado devido a aplicação de calcáreo e correção do pH, disponibilizando este elemento em maiores quantidades (Figura 40), possivelmente devido a liberação lenta do calcáreo adicionado.

FIGURA 39: TEOR DE MANGANÊS NA PARTE AÉREA POR PLÂNTULA

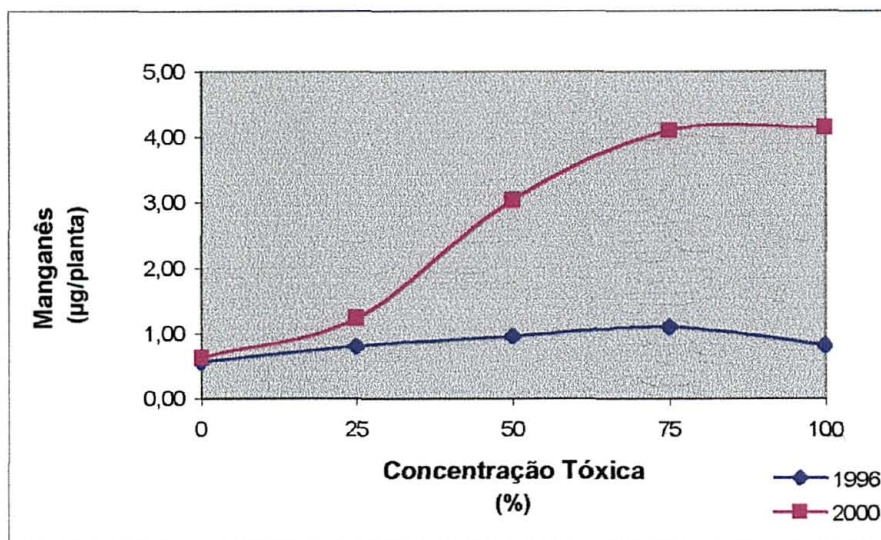
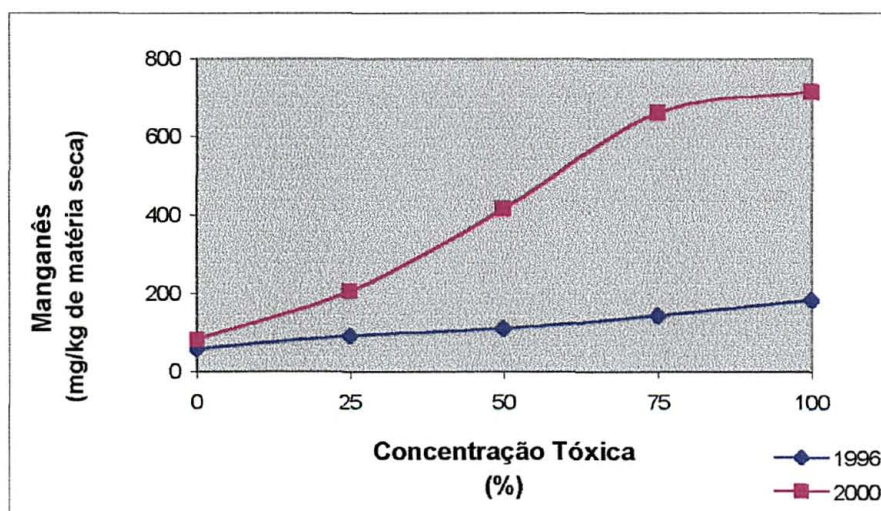


FIGURA 40: TEOR DE MANGANÊS NA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS



## 5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados observados a partir da análise do escopo deste trabalho conclui-se que:

- ❖ A medida que ocorre a biorremediação do solo, nos testes de fitotoxicidade, ocorreu maior absorção de chumbo, zinco, níquel, selênio e arsênio, indicando a liberação destes metais devido a biodegradação.
- ❖ Os metais que variaram após a biodegradação no período observado e que apresentam potencial para serem utilizados como indicadores de biorremediação foram, o chumbo, selênio e arsênio.
- ❖ A absorção do zinco pela parte aérea da plântula da *Avena strigosa* L. é independente do grau de saturação dos metais controlados pela norma 800/81, indicando que os valores de saturação desta norma, para este elemento é baixo, estando de acordo com os limites mais tolerantes deste metal pela norma 40 CFR 503 e pela proposta de alteração da legislação para fertilizantes orgânicos referente a regulamentação do uso de resíduos orgânicos urbanos e industriais.
- ❖ A absorção de metais nos testes de fitotoxicidade apresenta potencial para o uso como critério de biorremediação e para medir o estado de biorremediação.

## 6 ANEXOS

## ANEXO 1: DIGESTÃO DE METAIS DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULA DE AVEIA PRETA EM 1996

	METAIS (ppm)															
	As	K	Mg	Cd	Cr	Fe	Mn	Pb	Zn	Na	Al	Cu	Ni	Co	Se	V
AB-04 A1 F	0,040	14,300	3,327	0,003	0,008	0,449	0,537	0,210	0,239	12,310	0,243	0,051	0,009	0,020	0,027	0,017
AB-04 A2 F	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP
AB-04 A3 F	0,057	12,510	3,429	0,003	0,012	0,620	0,531	0,226	0,240	9,722	0,378	0,037	0,010	0,019	0,041	0,019
AB-04 A4 F	0,061	16,300	4,854	0,004	0,013	0,631	0,747	0,222	0,366	13,960	0,608	0,014	0,016	0,025	0,053	0,025
AB-04 B1 F	0,051	20,430	4,258	0,003	0,010	0,681	0,688	0,231	0,196	13,590	0,853	0,044	0,010	0,019	0,048	0,022
AB-04 B2 F	0,054	12,260	2,410	0,003	0,012	0,488	0,385	0,239	0,122	7,640	0,512	0,033	0,004	0,018	0,044	0,016
AB-04 B3 F	0,065	22,030	4,608	0,004	0,013	0,852	0,751	0,244	0,221	16,260	0,968	0,041	0,008	0,021	0,046	0,025
AB-04 B4 F	0,056	23,040	4,614	0,004	0,019	0,501	0,774	0,253	0,296	16,370	0,563	0,050	0,009	0,023	0,038	0,023
AB-04 C1 F	0,054	18,930	4,431	0,004	0,013	0,974	0,428	0,271	0,140	14,250	0,956	0,087	0,006	0,016	0,047	0,023
AB-04 C2 F	0,066	13,770	3,763	0,004	0,012	0,523	0,344	0,304	0,141	11,180	0,693	0,156	0,008	0,019	0,051	0,022
AB-04 C3 F	0,007	11,300	3,315	0,006	0,016	0,463	0,273	0,028	0,118	9,676	0,512	0,176	0,009	0,020	0,083	0,020
AB-04 C4 F	0,005	32,870	8,022	0,005	0,024	0,816	0,831	0,036	0,255	24,900	1,214	0,136	0,021	0,024	0,059	0,034
AB-04 D1 F	0,009	11,470	2,703	0,005	0,012	0,413	0,138	0,026	0,090	9,119	0,382	0,027	0,007	0,021	0,050	0,019
AB-04 D2 F	0,010	8,030	2,125	0,005	0,012	0,438	0,105	0,009	0,081	7,939	0,485	0,142	0,007	0,020	0,059	0,021
AB-04 D3 F	0,008	6,322	1,707	0,005	0,013	0,391	0,083	0,002	0,058	5,511	0,397	0,160	0,006	0,019	0,065	0,016
AB-04 D4 F	0,002	19,760	5,144	0,005	0,016	0,634	0,229	0,041	0,161	17,860	0,789	0,055	0,011	0,020	0,078	0,025
AB-04 E1 F	0,011	105,300	7,142	0,005	0,016	1,443	0,178	0,007	0,274	16,210	2,289	0,165	0,026	0,022	0,041	0,034
AB-04 E2 F	0,015	21,780	2,000	0,005	0,018	0,524	0,051	0,004	0,073	5,474	0,638	0,136	0,011	0,021	0,064	0,017
AB-04 E3 F	0,015	51,750	3,265	0,005	0,033	0,581	0,108	0,029	0,100	6,709	0,758	0,042	0,017	0,023	0,061	0,022
AB-04 E4 F	0,016	48,490	3,429	0,006	0,016	0,634	0,079	0,058	0,121	6,992	0,731	0,052	0,017	0,025	0,072	0,027
Branco	0,035	0,255	0,009	0,002	0,005	0,380	0,004	0,158	0,004	0,127	0,027	0,087	0,007	0,007	0,011	0,004

AP=amostra perdida



## ANEXO 2: DIGESTÃO DE METAIS DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS DE AVEIA PRETA EM 2000

	METAIS (ppm)															
	As	K	Mg	Cd	Cr	Fe	Mn	Pb	Zn	Na	Al	Cu	Ni	Co	Se	V
AB-04 A3 F	0,006	3,133	1,051	0,002	0,014	0,443	0,221	0,111	0,056	3,843	0,167	0,021	0,013	0,013	0,006	0,007
AB-04 A2 F	0,044	11,197	4,485	0,004	0,025	0,653	0,837	0,220	0,334	14,401	0,313	0,033	0,042	0,021	0,044	0,021
AB-04 A1 F	0,057	8,021	2,644	0,003	0,026	0,618	0,462	0,188	0,204	8,549	0,372	0,028	0,032	0,018	0,038	0,016
AB-04 B2 F	0,061	27,462	6,171	0,008	0,034	0,848	1,169	0,303	0,285	25,637	0,774	0,036	0,044	0,022	0,028	0,032
AB-04 B4 F	0,023	11,798	2,821	0,004	0,024	0,679	0,471	0,163	0,155	11,258	0,505	0,013	0,017	0,018	0,053	0,011
AB-04 C1 F	0,011	32,382	6,049	0,003	0,024	0,699	0,983	0,129	0,219	25,709	0,508	0,035	0,025	0,017	0,051	0,026
AB-04 C2 F	0,002	25,742	5,579	0,003	0,028	0,834	0,814	0,001	0,189	23,676	0,845	0,031	0,016	0,019	0,037	0,026
AB-04 C3 F	0,015	7,700	1,668	0,004	0,026	0,481	0,245	0,142	0,077	7,042	0,179	0,009	0,006	0,012	0,044	0,003
AB-04 C4 F	0,017	24,357	5,765	0,003	0,023	0,588	0,873	0,067	0,195	23,748	0,397	0,026	0,018	0,017	0,039	0,025
AB-04 D1 F	0,009	34,311	6,278	0,002	0,023	0,841	0,458	0,142	0,195	24,443	0,938	0,028	0,009	0,012	0,051	0,028
AB-04 D2 F	0,008	21,457	5,062	0,003	0,025	0,875	0,386	0,015	0,159	19,756	1,046	0,030	0,018	0,017	0,059	0,026
AB-04 D3 F	0,021	8,372	2,190	0,000	0,018	0,638	0,174	0,272	0,071	8,774	0,541	0,007	0,000	0,013	0,069	0,005
AB-04 D4 F	0,010	7,18	1,498	0,002	0,021	0,550	0,123	0,067	0,041	5,366	0,368	0,006	0,005	0,013	0,058	0,002
AB-04 E1 F	0,009	38,484	4,576	0,004	0,023	0,927	0,119	0,170	0,161	14,014	0,968	0,044	0,010	0,012	0,045	0,021
AB-04 E2 F	0,007	45,906	5,555	0,003	0,030	1,413	0,145	0,094	0,208	18,149	2,016	0,049	0,014	0,010	0,037	0,029
AB-04 E3 F	0,002	42,545	5,021	0,004	0,026	0,810	0,143	0,131	0,178	15,190	0,742	0,053	0,014	0,015	0,044	0,024
Branco	0,033	0,774	0,052	0,002	0,005	0,500	0,002	0,177	0,034	0,221	0,014	0,084	0,005	0,011	0,012	0,006

ANEXO 3: TEOR MÉDIO (mg/Kg da massa seca) DE METAIS NA PARTE AÉREA DA AVEIA PRETA NA ÁREA DE BIORREMEDIAÇÃO 04

AVEIA PRETA										
METAIS	1996					2000				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
As	0,00	0,00	0,00	0,00	1,96	16,74	19,95	0,00	0,00	0,00
K	158,02	455,99	1000,00	1423,41	7714,92	11953,62	17756,44	12311,75	13049,82	29072,41
Mg	1985,19	1297,44	1748,20	1395,86	1224,37	3985,52	3685,00	3397,67	3208,55	2940,22
Cd	0,00	0,00	0,00	0,47	0,25	1,49	2,07	1,44	1,76	2,10
Cr	0,00	0,00	0,00	1,40	0,98	18,33	11,69	16,45	12,24	13,66
Fe	0,00	50,51	160,20	197,10	427,96	147,91	262,08	146,53	118,25	229,07
Mn	181,48	142,50	109,20	89,98	56,70	712,63	660,33	415,14	204,24	79,41
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	55,90	52,65	26,13	0,00	0,00
Zn	AP	114,72	97,70	57,12	63,84	245,51	176,86	93,66	88,79	95,00
Na	8829,63	8172,44	7191,09	6193,48	5193,30	12879,52	13950,19	12135,68	11832,30	7768,14
Al	2525,93	2260,82	1795,98	1288,80	1320,10	462,61	495,26	487,92	665,71	673,17
Cu	7,41	10,46	4,31	38,48	25,48	45,36	31,61	25,21	21,40	39,20
Ni	11,11	5,41	1,44	6,27	6,06	30,58	13,23	9,42	8,92	11,23
Co	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,90	8,99	5,37	7,51	7,35
Se	0,00	0,00	0,00	9,13	12,89	31,27	29,23	26,65	27,58	25,70
V	0,00	0,00	0,00	0,00	4,91	12,83	14,34	12,69	10,83	13,32

AP=amostra perdida

## ANEXO 4: TEOR MÁXIMO DE METAIS PARA SOLO AGRÍCOLA - NORMA USEPA 40 CFR 503

METAL	TEOR MÁXIMO (kg/ha)
Zinco	2779
Cobre	1488
Níquel	417
Cádmio	39
Chumbo	298
Mercurio	17
Cromo	1488
Molibdênio	18
Selênio	99
Arsênio	41

## ANEXO 5: TAXAS MÁXIMAS DE APLICAÇÃO ANUAL E ACUMULATIVA - PROPOSTA DE ALTERAÇÃO LEI PARA FERTILIZANTES ORGÂNICOS

METAL	TAXA MÁXIMA DE APLICAÇÃO ACUMULATIVA (kg/ha)
Arsênio	41
Cádmio	39
Cobre	1500
Chumbo	300
Mercurio	17
Níquel	420
Selênio	100
Zinco	2800



## ANEXO 6: ACOMPANHAMENTO DE METAIS APLICADOS NA ÁREA 4 CONFORME 40 CFR 503

ÁREA/METAL	LIMITE MÁXIMO/ÁREA	QUANTIDADE APLICADA	SATURAÇÃO
	(kg/ha)	(kg/ha)	(%)
Zinco	2779	1001,52	36,03
Cobre	1488	305,42	20,52
Níquel	417	196,11	47,02
Cádmio	39	9,88	25,33
Chumbo	298	355,43	119,12
Mercúrio	17	ND	ND
Cromo	1488	ND	ND
Molibdênio	18	ND	ND
Selênio	99	ND	ND
Arsênio	41	ND	ND

ND = NÃO DETERMINADO

## ANEXO 7: ACOMPANHAMENTO DE METAIS APLICADOS NA ÁREA 4 CONFORME ALTERAÇÃO DA LEGISLAÇÃO PARA FERTILIZANTES ORGÂNICOS

ÁREA/METAL	LIMITE MÁXIMO/ÁREA	QUANTIDADE APLICADA	SATURAÇÃO
	(kg/ha)	(kg/ha)	(%)
Arsênio	41	ND	ND
Cádmio	39	9,88	25,33
Cobre	1500	305,42	20,36
Chumbo	300	355,43	118,47
Mercúrio	17	ND	ND
Níquel	420	196,11	46,69
Selênio	100	ND	ND
Zinco	2800	1001,52	35,76

ND= NÃO DETERMINADO

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. 2ª ed, s.l., AGT Editor S.A., 419p, 1980.
- 2 ALMEIDA, M. H.; CARVALHO, F. J. P. C. **Manual de operação do landfarming**. PETROBRAS - REPAR, Araucária, 1995.
- 3 ALI, E. A. **Damage to plants due to industrial pollution and their use as bioindicators in Egypt**. *Environmental Pollution*, n.81, p.251-255, 1993.
- 4 ANJOS, A. R. M. **Lixiviação de espécies químicas em latossolos sucessivamente tratados com bio sólido e disponibilidade de metais pesados para plantas de milho**. Dissertação (Tese de Doutorado), Universidade Federal do Paraná, 1999.
- 5 ANJOS, A. R. M. **Quantificação de metais pesados em solos e plantas**. Relatório técnico, 1989.
- 6 AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE, **Land treatment in the petroleum industry**. Washington - DC, June, 1983.
- 7 ASSOCIACAO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Resíduos Sólidos**. NBR 10004. Rio de Janeiro. 1987.
- 8 ANDREOLI, C. V.; PERGORINI, E. S. **Gestão de bio sólidos: situação e perspectivas**. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BÍOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, Curitiba, 1998, Anais, Curitiba: SANEPAR; ABEAS, p.11-18,1998.
- 9 BAKER, J. M. **The effect of oil on plants**. *Environmental Pollution*, n.1, p.27-44, 1970.
- 10 BAÑUELOS, G.S. *et al.* **Selenium accumulation by *Brassica napus* grown in Se-Laden soil from different depths of Kesterson Reservoir**. *Journal of Soil Contamination*, v.7, n.4, p.481-493, 1998.
- 11 BAUD, G. *et al.* **Evaluations of the bioremediation of a contaminated soil with phytotoxicity tests**. *Chemosphere*, Ohio, USA. v.26, n.7, p.1365-1374, CD:CAB, Resumo, 1993.
- 12 BERTI, B. **Remediation technology development**. Palestra apresentada no Workshop Phytoremediation of Organics Contaminants, Valor do Fort, USA, site internet [www.rtdf.org/phyttomin.htm](http://www.rtdf.org/phyttomin.htm), december, 1996.
- 13 BEWLEY, R. J. F. **Bioremediation of contaminated ground - Contaminated land treatment technologies**. Papers presented at international conference, Barking, UK; Elsevier Science Publishers, London, p.270-284, 1992.
- 14 BOLLAG, J.; MERTE, T.; OTJEN, L. **Role of microorganisms in soil bioremediation**. *American Chemical Society*, v.97, 1994.
- 15 BROOKS, R. R. **Phytoremediation by volatilisation - Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining**. Palmerston North, New Zealand, p.289-212, CD:Pollution-and-Degradation, Erosion-Soil-and-Water-Conservation, Resumo, 1998.

- 16 BROWN, K. C.; DONNELLY, K. C.; DEUEL, L. E. **Effects of mineral nutrients, sludge application rate, and application frequency on biodegradation of two oily sludges.** Microbial Ecology, College Station, Texas, v.9, n.4, p.363-373, 1983, CAB:OS Soils-and-Fertilizers, ref. 047-13454. Resumo, 1984.
- 17 BROWN, K. S. **The green clean.** BioScience, Columbia, USA. v.45, n.9, p.579-582, CD: Pollution-and-Degradation; Biodegradation-Organisms, Resumo, 1995.
- 18 CARR, R. H. **Vegetative growth in soils containing crude petroleum.** Soil Science, Madison, WI, New Brunswick, USA. v.8, 1919.
- 19 CARVALHO, F. J. P. C. Resultados não Publicados, 1997.
- 20 CARVALHO, F. J. P. C. *et al.* **Desenvolvimento de tecnologia para tratamento de resíduos de toxicidade variável no sistema landfarming.** PETROBRAS - REPAR, s/v., p. 607-616, 1995.
- 21 CARVALHO, F. J. P. C.; ALMEIDA, M. H. **Petrobras's high efficiency landfarming sistem: "New for biodegradable toxic industrial wastes"** in Biodeterioration an Biodegradation. DECHEMA Monographs, v.133, Hamburg, p.535-542, Sep, 1996.
- 22 CARVALHO, P. C.; BARRAL, M. F. **Aplicação de lodo de esgoto como fertilizante.** Fertilizantes, v.3, n.2, p.1-5, 1981.
- 23 CASARINI, D. C. P. **Padrões de qualidade de solos e águas subterrâneas.** Workshop sobre biodegradação, p.23-38, 1996.
- 24 COMIS, D. **Green remediation: Using plants to clean the soil.** Journal of Soil and Water Conservation U.S., Departament of Agriculture-Agricultural Reserch Service, United State of America, v.47, n.4, July, 1992.
- 25 CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 9 de 31 de Agosto de 1993.
- 26 CONCAWE **Sludge farming: a technique for the disposal of oily refinery wastes.** Concawe Report 3: 80, The Hague, 95p, 1980.
- 27 CUNNINGHAM, S. D. & OW D. M. **Promises and prospects of phytoremediation.** Plant physiology, Newark, United State of America, v.110, n.3, p. 715-719, 1996a.
- 28 CUNNINGHAM, S. D.; *et al.* **Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants.** Department of Plant an Soil Sciences, University of Delaware, v.56, p.114, 1996b.
- 29 CUTRIGHT, T. J.; LEE, S. **In situ soil remediation: Bacteria or Fungi?.** Departament of Chemical Engineering, University of Akron, Akron - Ohio - USA. s/v., p. 413-419, 1994.
- 30 DE JONG, E. **The effect of a crude oil spill on cereals.** Environmental Pollution, n.22, p.187-196, 1980.
- 31 DIBBLE, J. T.; BARTHA, R. **Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge.** Applied and Environmental Microbiology, New Brunswick, New Jersey, v. 37, n. 4, p. 729-739, CD:Soil-Biology; Materials-Science, Resumo, 1979.
- 32 DINEEN, D. *et al.* **In situ biological remediation of petroleum hydrocarbons in unsaturated soils.** In: Principles and Practices for Petroleum Contaminated Soils (Calabrese, E.J., Kostecki, P.T. - ed.), p.453-463, Boca Raton: Lewis Publishers, 1992.

- 33 DONKER, M. H. **Ecotoxicology of soil organisms**. Lewis Publishers, 409p, 1994.
- 34 EMBRAPA **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Empresa Brasileira de Pesquisa agropecuária, Ministério da Agricultura, Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solo, 1979.
- 35 ENGLERT, C. J. *et al.* **Bioremediation of petroleum products in soil**. *Biorremediation of Soils*, Michigan, p.111-129, 1993.
- 36 ENTRY, J. A.; EMMINGHAM, W. H. **Influence of vegetation on microbial degradation of atrazine and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in riparian soils**. *Soil Science*, Madison, WI, v.76, n.1, p.101-106, 1996.
- 37 EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. Livros Técnicos e Científicos, São Paulo, 1975.
- 38 ERNST, W. H. O. *et al.* **Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants**. *Applied Geochemistry*, Amsterdam, Netherlands. v.11, p.163-167, CD:Pollution-and-Degradation, Biological-Resources-Plant, Resumo, 1996.
- 39 FISHER, P. J. *et al.* **Bacterial survival and n - alkane degradation within Omani crude oil and a mousse**. *Department of Biological Sciences, University of Exeter, s/v.*, p.403-407, 1995.
- 40 FLATHMAN, P. E; LANZA, G. R. **Phytoremediation: Current views on an emerging green Technology**. *Journal of Soil Contamination*, Boca Raton, v.7, n.4, p.415-432, 1998.
- 41 GONÇALVES, C. M. **Avaliação do uso de microrganismos da camada reativa do landfarming para acelerar o processo de biorremediação em áreas de biorremediação**. Dissertação (Monografia de Conclusão de Curso em Biologia), Pontifícia Universidade Católica, Paraná, 1996.
- 42 GRUIZ, K.; KRISTON E. **In Situ bioremediation of hidrocarbon in soil**. *Journal of Soil Contamination*, Budapest, v.4, n.2, p.163-173, 1995.
- 43 GUDIN, C.; SYRATT, W. J. **Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination**. *Environmental Pollution*, England, v.8, p.107-112, 1975.
- 44 HAIMANN, R. A. **Fungal technologies for the treatment of hazardous waste**. *Environmental Progress*, Santa Ana - California, v.14, n.3, p.201-203, August, 1995.
- 45 HILDEBRAND, C. **Manual de análise química de solos e plantas**. Curitiba, Universidade Federal do Paraná (mimeografiado), 1976.
- 46 HUESEMAN, M. H. **Guidelines for land-treating petroleum hydrocarbon - contaminated soils**. *Journal of Contamination*, v.3, n.3, p.299-318, 1994.
- 47 JAFFRÉ, T. *et al.* **Sebertia acuminata: A hyperaccumulator of nickel from New Caledonia**. *Science*, v.193, p.579-580, 1976.
- 48 KABATA P. A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. CRC Press, Inc. Boca Raton, 1985.
- 49 LANGENBACH, T. **Biodegradação de xenobiontes: potencialidades e limites**. *Microrganismos de Importância Agrícola - EMBRAPA*, Brasília, p.217-228, 1994.
- 50 LEWIS, M. **Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review**. *Environmental Pollution*, n.87, Elsevier Science Limited, p.319-336, 1995.

- 51 LUCCHESI, L. A. C. **Avaliação do uso de forrageiras e adubações na recuperação de um solo degradado pela mineração do xisto - I. Propriedades químicas; II. Propriedades físicas.** Anais do I Simpósio Sul-Americano e II Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas, p.247-265, 1994.
- 52 MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas.** São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1980.
- 53 MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: Micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos.** Produquímica Indústria e Comércio Ltda, s/n, 150p., São Paulo, 1994.
- 54 MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola.** São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1976.
- 55 MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** San Diego, C.A. Academic press inc, 5ª edição, 1993.
- 56 McBRIDE, M. B. **Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: Are USEPA regulations protective?** Journal of Environmental Quality, v.24, n.1, p.5-18, 1995.
- 57 McCUTCHEON, S. **Phytoremediation of organic compounds: validation approaches for field testing and research needs.** Palestra apresentada no Workshop phytoremediation of organics contaminants, Valor do Fort, USA, site internet [www.rtdf.org/phyttomin.htm](http://www.rtdf.org/phyttomin.htm), december, 1996.
- 58 MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition.** 2ª edição, Institute Worblanfen, Bern, Switzerland, 1975.
- 59 MERRY, R. H. *et al.* **The effects os soil contamination with copper, lead and arsenic on the growth and composition of plants.** Plant an Soil, Martinus Nijhoff Publishers, Printed in the Netherlands, Dordrecht, v.95, n.2, p.256-269, 1986.
- 60 MIELNICZUK, C. **A População microbiana e a degradação de resíduos petroquímicos no solo.** Dissertação (Tese de Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- 61 NASCIMENTO NETO, D. **Desenvolvimento de metodologia para bioindicadores vegetais de biorremediação do solo contaminado com resíduo de refinaria de petróleo.** Dissertação (Monografia de Conclusão de Curso em Biologia), Pontificia Universidade Católica, Curitiba, 1996a.
- 62 NASCIMENTO NETO, D. **Metodologia para bioindicadores de biorremediação do solo com resíduos de atividades petrolíferas.** In: 4º EVINCI Evento de Iniciação científica da UFPR, Anais, Curitiba: UFPR, p.371, 1996b.
- 63 NELSON, W. L. **Petroleum refinery engineering.** Macgraw - Hill Book Company Inc., 789p, 1949.
- 64 PAULINO, L. **Espécies florestais como bioindicadores de biorremediação de áreas com resíduos de refinarias.** In: 4º EVINCI Evento de Iniciação científica da UFPR, Anais, Curitiba: UFPR, p.371, 1996.
- 65 PAVAN, M. A. *et al.* **Manual de análise química de solo e controle de qualidade.** Londrina IAPAR - Circular n.76, 40p, 1992.
- 66 PRADO, M. A.; LOPEZ *et al.* **Recuperacion de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el uso de leguminosas inoculadas.** Vision Tecnologica, Venezuela, v.1, n.2, 1995.

- 67 RANGEL, C. M. P.; FRANTZ, J. H.; BASTIANI, M. **Landfarming for treatment and disposal of oily wastes originating in the south petrochemical complex**. Water Science and Technology, v.20, n.10, p.221-230, CAB:OS Soils-and-Fertilizers, ref. 052-05576, Resumo, 1989.
- 68 REPAR ME-6360-019 **Determinação do índice de toxicidade de resíduos oleosos**. 12 p., Araucária, 1997.
- 69 REPAR ME-6360-024 **Determinação do pH do solo do landfarming**. 10 p., Araucária, 1997.
- 70 REPAR ME-6360-025 **Determinação de metais, em solos e em resíduos oleosos**. 15 p., Araucária, 1997.
- 71 REPAR ME-6360-026 **Determinação dos teores de água, de solúveis em n-Heptano e tolueno, em solos e em resíduos oleosos**. 16 p., Araucária, 1997.
- 72 ROCK, S. **Phytoremediation of organic compounds: mechanisms of action and target contaminants**. Palestra apresentada no Workshop phytoremediation of organics contaminants, Valor do Fort, USA, Site internet [www.rtdf.org/phyttomin.htm](http://www.rtdf.org/phyttomin.htm), december, 1996.
- 73 SCHOONER, J. L. **Phytoremediation of organic and nutrient contaminants**. Environmental Science & Technology, v.29, n.7, p.319-232, 1995.
- 74 SCHOLLENBERGER, C. J. **Effect of leaking natural gas upon the soil**. Soil Science, Madison, WI, v.29, p.261-266, 1930.
- 75 SIQUEIRA, J. O. *et al.* **Microrganismos e processos biológicos do solo: Perspectiva ambiental**. EMBRAPA - SPI, Brasília-DF, p.116-122, 1994.
- 76 SKLADANY, G. J.; METTING J. R.; BLAINE F. **Bioremediation of contaminated soil. Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. Books in Soils, Plants and The Environment, New York, USA. p.483-513, 1992.
- 77 SOUZA, S. L. **Estudo de vegetalização em áreas contaminadas com resíduos da atividade petrolífera**. Proposta para Trabalho de Tese de Mestrado, 1994.
- 78 SOUZA, S. L., **Revegetação de área de biorremediação contaminada por resíduos oleosos de petróleo**. Dissertação (Tese de Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Paraná, 1999.
- 79 STEVENS, D. P. *et al.* **Phytotoxicity of the fluoride ion its uptake from solution culture by Avena sativa and Lycopersicon esculentum**. Plant and Soil, International Journal on Plant, Soil Relationships, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands, v.200, n.2, March, 1998.
- 80 THOMAS, G. W., PEASLEE, D. E. **Testing soil for phosphorus**. In: Walsh, L.M. e BEATON, J.D., Soil testing and plant analysis, American Society Agronomy, Madison, Wiscosin, p.115-132, 1973.
- 81 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA - BIBLIOTECA CENTRAL **Estilo e orientação para datilografia e digitação**. Curitiba, 1994.
- 82 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA - BIBLIOTECA CENTRAL **Normas para apresentação de trabalhos - Referencias Bibliográficas**. Curitiba, 1994.
- 83 VANDECAVEYE, S. C. **Microbial activity in relation to organic matter transformation**. Soil Science (Thirt Com. Int. Soc. Soil Science), Madison, WI, p.130-132, 1939.

- 84 WALKLEY, A.; BLACK, T. A. **An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method.** Soil Science, p.29-38, 1934.
- 85 WALLACE, A.; WALLACE, G .A. **A possible flaw in EPA's 1993 new sludge rule due heavy metal interactions.** Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.25, n.1/2, p.129-135, 1994.
- 86 WILLIAMS, D. E. *et al.* **Metal movement in sludge-amended soils: a nine-year study.** Soil Science, v.143, n.2, p.124-131, 1987.